

Einsatz von lymphozytotoxischen Seren
primiparer und multiparer Rinder
zur Markierung des
BoLA-Histokompatibilitätssystems

Klaus Zimmermann

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554824_0052

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
(Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c.mult.A.Mayr)
und dem Institut für
Blutgruppen- und Resistenzforschung der Tierzuchtforschung e.V.
München
(Wissenschaftlicher Leiter: Prof.Dr.Dr.h.c.mult.A.Mayr)
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof.Dr.D.O.Schmid

Einsatz von lymphozytotoxischen Seren
primiparer und multiparer Rinder
zur Markierung des BoLA-Histokompatibilitätssystems

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Klaus Zimmermann
aus
Nördlingen

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: _____ Prof. Dr. H. Zucker _____

Referent: _____ Prof. Dr. D.O. Schmid _____

Korreferent: _____ Priv. Doz. Dr. Dr. habil. G. Brem _____

Tag der Promotion: _____ 27. Februar 1987 _____

Verzeichnis

1	Einleitung	1
2	Die Bedeutung der Kunst	2
3	Die Kunst des Mittelalters	3
4	Die Kunst der Renaissance	4
5	Die Kunst des Barock	5
6	Die Kunst des 18. Jahrhunderts	6
7	Die Kunst des 19. Jahrhunderts	7
8	Die Kunst des 20. Jahrhunderts	8
9	Die Kunst der Gegenwart	9
10	Die Kunst der Zukunft	10
11	Die Kunst der Vergangenheit	11
12	Die Kunst der Gegenwart	12
13	Die Kunst der Zukunft	13
14	Die Kunst der Vergangenheit	14
15	Die Kunst der Gegenwart	15
16	Die Kunst der Zukunft	16
17	Die Kunst der Vergangenheit	17
18	Die Kunst der Gegenwart	18
19	Die Kunst der Zukunft	19
20	Die Kunst der Vergangenheit	20
21	Die Kunst der Gegenwart	21
22	Die Kunst der Zukunft	22
23	Die Kunst der Vergangenheit	23
24	Die Kunst der Gegenwart	24
25	Die Kunst der Zukunft	25
26	Die Kunst der Vergangenheit	26
27	Die Kunst der Gegenwart	27
28	Die Kunst der Zukunft	28
29	Die Kunst der Vergangenheit	29
30	Die Kunst der Gegenwart	30
31	Die Kunst der Zukunft	31
32	Die Kunst der Vergangenheit	32
33	Die Kunst der Gegenwart	33
34	Die Kunst der Zukunft	34
35	Die Kunst der Vergangenheit	35
36	Die Kunst der Gegenwart	36
37	Die Kunst der Zukunft	37
38	Die Kunst der Vergangenheit	38
39	Die Kunst der Gegenwart	39
40	Die Kunst der Zukunft	40
41	Die Kunst der Vergangenheit	41
42	Die Kunst der Gegenwart	42
43	Die Kunst der Zukunft	43
44	Die Kunst der Vergangenheit	44
45	Die Kunst der Gegenwart	45
46	Die Kunst der Zukunft	46
47	Die Kunst der Vergangenheit	47
48	Die Kunst der Gegenwart	48
49	Die Kunst der Zukunft	49
50	Die Kunst der Vergangenheit	50
51	Die Kunst der Gegenwart	51
52	Die Kunst der Zukunft	52
53	Die Kunst der Vergangenheit	53
54	Die Kunst der Gegenwart	54
55	Die Kunst der Zukunft	55
56	Die Kunst der Vergangenheit	56
57	Die Kunst der Gegenwart	57
58	Die Kunst der Zukunft	58
59	Die Kunst der Vergangenheit	59
60	Die Kunst der Gegenwart	60
61	Die Kunst der Zukunft	61
62	Die Kunst der Vergangenheit	62
63	Die Kunst der Gegenwart	63
64	Die Kunst der Zukunft	64
65	Die Kunst der Vergangenheit	65
66	Die Kunst der Gegenwart	66
67	Die Kunst der Zukunft	67
68	Die Kunst der Vergangenheit	68
69	Die Kunst der Gegenwart	69
70	Die Kunst der Zukunft	70
71	Die Kunst der Vergangenheit	71
72	Die Kunst der Gegenwart	72
73	Die Kunst der Zukunft	73
74	Die Kunst der Vergangenheit	74
75	Die Kunst der Gegenwart	75
76	Die Kunst der Zukunft	76
77	Die Kunst der Vergangenheit	77
78	Die Kunst der Gegenwart	78
79	Die Kunst der Zukunft	79
80	Die Kunst der Vergangenheit	80
81	Die Kunst der Gegenwart	81
82	Die Kunst der Zukunft	82
83	Die Kunst der Vergangenheit	83
84	Die Kunst der Gegenwart	84
85	Die Kunst der Zukunft	85
86	Die Kunst der Vergangenheit	86
87	Die Kunst der Gegenwart	87
88	Die Kunst der Zukunft	88
89	Die Kunst der Vergangenheit	89
90	Die Kunst der Gegenwart	90
91	Die Kunst der Zukunft	91
92	Die Kunst der Vergangenheit	92
93	Die Kunst der Gegenwart	93
94	Die Kunst der Zukunft	94
95	Die Kunst der Vergangenheit	95
96	Die Kunst der Gegenwart	96
97	Die Kunst der Zukunft	97
98	Die Kunst der Vergangenheit	98
99	Die Kunst der Gegenwart	99
100	Die Kunst der Zukunft	100

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Literaturübersicht	3
2.1.	Lymphozytenantigene beim Rind	3
2.2.	Lymphozytenspezifische Antikörper und ihre Bildung während der Träch- tigkeit beziehungsweise der Schwanger- schaft	11
2.2.1.	Mensch	11
2.2.2.	Rind	16
2.2.3.	Pferd	20
2.2.4.	Schwein	21
2.2.5.	Schaf	21
2.2.6.	Ziege	22
2.3.	Natürliche Antikörper	23
2.4.	Lymphozytenisolierung	27
2.5.	Methoden zum Nachweis von Lympho- zytenantigenen	29
2.5.1.	Makro- und Mikrozytotoxizitätstest	29
2.6.	Fraktionierung von Antilymphozyten- seren	30
3.	Eigene Untersuchungen	32
3.1.	Material und Methoden	32
3.1.1.	Versuchsmaterial und Versuchsaufbau	32

3.1.2.	Serumgewinnung	35
3.1.3.	Lymphozytenisolierung	35
3.1.4.	Serologischer Nachweis der lympho- zytotoxischen Antikörper	37
3.1.4.1.	Mikrozytotoxizitätstest	37
3.1.4.2.	Mikrotitration	40
3.1.4.3.	Antikörperfraktionierung durch Absorption	40
4.	Ergebnisse	43
4.1.	Lymphozytotoxische Antikörper im Serum von trächtigen Rindern	43
4.2.	Antilymphozytenseren und ihre sero- logische Klassifizierung	45
4.3.	Antigen-Analyse	66
4.4.	Fraktionierung der Antilymphozyten- seren durch Absorption	68
4.5.	Lymphozytotoxische Antikörper und ihre klinische Bedeutung	76
5.	Besprechung der Ergebnisse	77
6.	Zusammenfassung	86
7.	Summary	88
8.	Literaturverzeichnis	90

1. Einleitung

Der Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex : MHC) hat für die Vertebraten eine überragende immunbiologische Bedeutung.

Einige MHC-Gene kodieren die sehr polymorphen und antigenen Glykoproteine, die wichtige Bestandteile der Membran der meisten kernhaltigen Zellen (Klasse I - Antigene) oder der Zellmembran der verschiedenen Zelltypen im lymphoretikulären Gewebe (Klasse II - Antigene) sind.

Sowohl die Klasse I - Antigene als auch die Klasse II - Antigene haben eine Schlüsselrolle in der Entwicklung und Regulation der physiologischen Immunantwort. Sie sind von Serien eng gekoppelter Gene kontrolliert.

Die biochemische Struktur der Klasse I - Produkte des Rindes zeigt eine komplette Homologie mit den entsprechenden MHC-Strukturen des Menschen (HLA) und der Maus (H-2).

Aus noch ungeklärten Gründen weisen HLA-Produkte des Menschen und BoLA-Produkte des Rindes hohe Kreuzreaktivität auf.

Bisher konzentrierten sich die meisten Studien beim Rind auf die serologische Charakterisierung von Klasse I - Alloantigenen und deren Nachweis mit Antilymphozytenseren (ALS).

Beim Rind stammen die meisten Antilymphozytenserum von Kühen, die während der Trächtigkeit durch foetomaternale Immunisierung sensibilisiert wurden (VAIMAN 1986).

2. Literaturübersicht

2.1. Lymphozytenantigene beim Rind

Die Erforschung der Lymphozytenantigene bei unseren landwirtschaftlichen Nutztieren steht seit vielen Jahren weltweit im Mittelpunkt immunbiologischer Forschung. Ziel dieser Forschungsarbeiten ist ganz allgemein der Versuch einer immunogenetischen Markierung der Immunantwort bei diesen Tieren. Im Mittelpunkt des Interesses stehen dabei immer noch die Lymphozytenantigene des Rindes.

STONE et al. (1965) beobachteten bei Hauttransplantationen zwischen Rinderzwillingen mit Erythrozytenchimärismus eine verzögerte Abstoßung und führten diese auf Unterschiede im Histokompatibilitätssystem zurück.

BOROVSKA und DEMANT (1967) berichteten über den Nachweis der bisher nur an Erythrozyten festgestellten Blutgruppenantigene des S-Blutgruppensystems H' und U₁ an Leukozyten des Rindes. Sie diskutierten einen möglichen Zusammenhang zwischen diesem Blutgruppensystem und der Histokompatibilität.

Untersuchungen mit antileukozytären Iso- und Heteroimmunseren beim Rind ergaben die Möglichkeit, eine Reihe von unterschiedlichen Lymphozytenantigenen und Granulozytenantigenen zu differenzieren (SCHMID und OTTO 1970, SCHMID und CWIK 1972).



Mc GARY und STONE (1970) erhielten durch Untersuchungen von Rinderfamilien im Fluoreszenz-Zytotoxizitätstest Hinweise auf genetisch determinierte antigene Strukturen auf der Oberfläche von Lymphozyten.

Das an Erythrozyten und im Blutserum vorkommende J-Antigen des Rindes wurde von HRUBAN und SIMON (1973) auch an Rinderlymphozyten nachgewiesen. Es war damit nicht ausgeschlossen, daß das J-System für die Histokompatibilität bedeutungsvoll ist.

Die erythrozytären Blutgruppenfaktoren E'₃ und Y' aus dem B-Blutgruppensystem des Rindes wurden von SCHMID et al. (1978a) an Rinderlymphozyten nachgewiesen.

Rezeptoren für das Lektin Phaseolus vulgaris fanden SCHMID und CWIK (1973) an Lymphozyten und Granulozyten des Rindes. Dabei handelte es sich um genetisch determinierte Marker.

IHA et al. (1973) berichteten über kreuzreaktive Antikörper in Antilymphozytenseren von trächtigen Rindern, die mit HLA-Antigenen des Menschen reagierten.

Kreuzreaktionen mit Lymphozyten des Rindes traten sehr viel häufiger auf als mit Lymphozyten von allen anderen domestizierten Tierarten (NEWMAN und ANTCZAK, 1983). In den meisten Fällen war die Reaktivität von ALS gegenüber Rinderzellen in ihrer Frequenz mit der Reaktivität von ALS gegenüber Zellen

der Primaten vergleichbar (BRODSKY et al., 1981; BRODSKY und PARHAM, 1982; TEILLAUD et al., 1982).

NEWMAN und ANTCHAK (1983) wiesen darauf hin, daß der hohe Grad an Kreuzreaktivität zwischen den MHC-Antigenen von zwei in ihrer Evolution divergenten Spezies außerordentlich bemerkenswert ist.

Von OSTRAND-ROSENBERG und STORMONT (1974) wurden unter Verwendung von erythrozytenspezifischen Blutgruppentestseren im Lymphozytotoxizitätstest bewiesen, daß Leukozyten aus peripherem Rinderblut spezifische Oberflächenantigene besitzen. Dabei wurde zwischen den Leukozytenantigenen und den Erythrozytenantigenen keine Beziehung gefunden.

Auch FOLGER und HINES (1976) konnten keine Beziehung zwischen Lymphozytenantigenen und Erythrozytenantigenen oder Spermaantigenen des Rindes herstellen. Die von BOROVSKA und DEMANT (1967) und HRUBAN und SIMON (1973) gemachten Beobachtungen konnten nicht nachvollzogen werden.

Über Saugkälber mit experimentell erzeugtem hämolytischem Ikterus mit gleichzeitiger Leukopenie berichteten DIMMOCK et al. (1976). Es muß davon ausgegangen werden, daß neben den gegen Erythrozyten gerichteten Antikörpern, die den hämolytischen Ikterus verursachten, auch zur Leukopenie führende gegen Leukozyten gerichtete Antikörper im Blutserum beziehungsweise in der Kolostralmilch vorhanden waren.

WIRSING et al. (1979) konnte am Beispiel der Maus zeigen, daß passiv Übertragene, spezifische maternale Antikörper in der Lage sind, im juvenilen Säugetierorganismus eine relativ lange anhaltende Unterdrückung der primären und sekundären Immunantwort zu bewirken.

CALDWELL et al. (1977, 1979) entdeckten mit Hilfe von Anti-Lymphozytenserum von trächtigen Rindern sechs Lymphozytenantigene, die von sechs kodominanten Allelen des BoLA-Systems kontrolliert wurden.

AMORENA und STONE (1978) identifizierten 11 Lymphozytenantigene. Diese wurden durch kodominante Allele kontrolliert und wurden einem genetischen Locus des BoLA-Systems zugeordnet. Bei diesen Antigenen handelte es sich um Histokompatibilitätsantigene, die bei der Transplantationsreaktion eine wichtige Rolle spielen und daher dem MHC des Rindes zugeordnet wurden.

USINGER et al. (1977) berichteten, daß die Lymphozytenantigene des Rindes von mindestens zwei genetischen Loci kontrolliert werden.

SPOONER et al. (1978) gewannen lymphozytotoxische Seren durch Hauttransplantationen beim Rind. Die Ergebnisse der Untersuchungen wiesen auf mindestens 17 verschiedene genetisch

determinierte Antigenfaktoren hin. Diese Faktoren waren von einer begrenzten Anzahl von eng gekoppelten Loci kontrolliert.

Ebenfalls mit Antilymphozytenseren, die nach Hauttransplantation beim Rind gewonnen wurden, arbeiteten VOLLMER (1979) und SLEPCHENKO et al.(1978). Sie konnten 12 verschiedene Lymphozytenantigene definieren.

SPOONER et al.(1979a) berichteten, daß sich hochtitrige Antilymphozytenseren leichter durch Hauttransplantationen als von trächtigen Rindern gewinnen lassen.

In einem ersten internationalen BoLA Vergleichstest im August 1978 konnten die in den einzelnen Laboratorien voneinander unabhängig nachgewiesenen Antikörper und die damit korrespondierenden Lymphozytenantigene in 11 Gruppen(Cluster) eingeteilt werden.(SPOONER et al.1979 b).

Bei der Differenzierung des BoLA-Komplexes gelang es, sechs Antigene zu markieren, die für B-Lymphozyten spezifisch waren. Diese verschiedenen B-Lymphozyten spezifische Antigene waren genetisch determiniert und folgten einem autosomalen kodominanten Erbgang (CICHON 1979, CWIK et al. 1979)

CURIE-COHEN et al. (1978) sprachen von mindestens vier Loci zur Kontrolle der LD-Antigene beim Rind. Diese Antigene werden jetzt als Klasse II - Antigene bezeichnet.

SPOONER et al. (1980) spalteten die Seren der Cluster W 1, W 2, W 5, W 8, W 9, W 10 und W 11, die im I. Internationalen Vergleichstest vertreten waren, durch Absorption in weitere Antikörperpopulationen auf. Es gab Hinweise, daß innerhalb dieser Cluster (außer Cluster W 9) Untergruppen-Spezifitäten definierbar sind.

Von wenigstens vier Untergruppen innerhalb des Clusters W 6 berichteten SPOONER et al. (1980, 1981).

SPOONER und FERRONE (1984) sprachen von einer ähnlichen Verteilung der Ia-Antigene auf Rinderlymphozyten wie auf Lymphozyten von Mensch und Maus.

ANDERSSON et al. (1986a) untersuchten die Klasse II - Gene des MHC des Rindes. Es gab deutliche Hinweise für das Auftreten einer DQ-like und einer DR-like Subregion beim Rind. Ebenso wiesen sie auf eine enge Kopplung zwischen DQ und dem Blutgruppen-locus M hin, der ja, wie schon bekannt war, mit dem BoLA A - Locus eng gekoppelt ist.

Über eine enge genetische Kopplung zwischen Klasse I - und Klasse II - Genen berichteten ANDERSSON et al. (1986b).

DAVIES und ANTCHAK (1986) wiesen darauf hin, daß DX-Antikörper mit Epitopen reagieren, die mit verschiedenen Klasse II - Haplotypen assoziiert sind. Daraus wurde geschlossen, daß

es sich entweder um "public" Epitope oder um multiple Klasse II - Loci handelt.

In ihrem Untersuchungsmaterial definierten ANDERSSON et al. (1986c) neun DQ_{α} Allele und 12 DQ_{β} Allele. Gleichzeitig stellten sie ein Kopplungsungleichgewicht zwischen DQ_{α} - und DQ_{β} -Allelen bei den untersuchten Tieren fest.

Enge Beziehung besteht zwischen dem BoLA-Antigen W 16 und dem erythrozytären Antigen M' , ebenso wie zwischen dem BoLA_ Antigen OH 26 und dem erythrozytären Antigen M₁ . Die kontrollierenden Loci sind zumindest eng gekoppelt (HINES et al. 1984a).

Beim Vergleich M-positiver mit M-negativen Tieren im Bezug auf das Auftreten von Mastitis, zeigten M-positive Tiere eine höhere Mastitisrate (LARSEN et al., 1984).

LEVEZIEL und HINES (1984) beschrieben eine enge Kopplung zwischen dem M-System und dem BoLA-System.

Signifikante Zusammenhänge bestanden nach MEYER et al. (1984) zwischen BoLA-Typen und der Anfälligkeit gegenüber Mastitiden.

HINES et al. (1984b) brachten mehrere Allele des BoLA-Locus in Verbindung mit statistisch signifikanten Unterschieden in der

Milchproduktion und den Fettprozenten.

Eine Beziehung zwischen BoLA-Antigenen und der Empfänglichkeit gegenüber der Rinderleukämie wurde von HINES et al. (1984b) beschrieben. Ein direkter Einfluß von Allelen des BoLA-Locus wurde ausgeschlossen. Ein Kopplungseffekt könnte jedoch in Betracht gezogen werden.

Auch BERNOCO et al. (1984) machten die Bedeutung des BoLA-Locus bei der Infektion und Transformation durch das Rinderleukämievirus zum Gegenstand ihrer Untersuchungen. Der BoLA W 8 - Phänotyp war häufiger mit seronegativen Tieren und einer altersabhängigen Resistenz gegenüber Lymphozytose assoziiert.

SHISHKOV und SLEPCHENKO (1986) berichteten über die erhöhte Frequenz von Mo BoLA-W 8 Antigenen in einer Gruppe von hämatologisch und pathomorphologisch an boviner Leukämie erkrankten Tieren, während die Mo BoLA-W A1 und W A2 Antigenfrequenz im Vergleich zu gesunden Tieren erniedrigt war.

Untersuchungen von LEWIN et al. (1986) gaben Hinweise, daß BoLA nicht auf der Stufe der Infektion mit dem bovinen Leukämie Virus (BLV) wirkt, sondern eher bei der Immunantwort auf proliferierende Gruppen von BLV-infizierten B-Lymphozyten.

Nach Untersuchungen von LEWIN und BERNOCO (1986) steht das subklinische Fortschreiten der BLV-Infektion unter der Kontrolle des BoLA-Komplexes. Sie legten nahe, daß das BoLA-System als Selektionskriterium für die Resistenz gegenüber der B-Zellproliferation und der Entwicklung der Lymphozytose in einer BLV-infizierten Herde herangezogen werden könnte.

2.2. Lymphozytenspezifische Antikörper und ihre Bildung während der Trächtigkeit beziehungsweise der Schwangerschaft

2.2.1. Mensch

VAN ROOD et al. (1958) berichteten über eine Fieberreaktion bei einer Frau nach der sechsten Entbindung, die durch eine blutgruppenverträgliche Bluttransfusion hervorgerufen wurde. Starke Leukozytenantikörper, die möglicherweise schon in früheren Schwangerschaften gebildet wurden, konnten für diese Transfusionsreaktion verantwortlich gemacht werden.

PAYNE (1962) konnte bei 19% der untersuchten Frauen Leukoagglutinine während der zweiten Schwangerschaft nachweisen. Während weiteren Schwangerschaften konnte keine Erhöhung dieser Frequenz beobachtet werden. Mindestens zwei Kinder mußten das stimulierende gleiche Antigen besitzen. Das frühe Auftreten von Agglutininen in der zweiten Schwangerschaft wies auf eine Antigen- oder Zellpassage während der foetalen Entwicklung, und/oder eine anhaltende Antikörperentstehung als Antwort auf die Sensibilisierung während der Geburt des ersten Kindes hin.

Über ein Ansteigen der Leukoagglutininfrequenz von fünf Prozent bei Erst- und Zweitgraviden auf 15% bei Drittgraviden berichtete JENSEN (1962).

Frühgeburten waren bei Schwangeren mit kompletten Leukoagglutininen signifikant häufiger als bei Frauen, denen diese Antikörper fehlten (JENSEN, 1964). Eine Beziehung zwischen dem Auftreten von kompletten Leukoagglutininen und Aborthäufigkeit, kindlicher Sterblichkeit und dem Auftreten von Mißbildungen konnte er nicht finden.

Nach JENSEN (1966) bestand kein Grund zur Annahme, daß mütterliche Leukoagglutinine bei Kindern in der neonatalen Periode zur Leukopenie oder Neutropenie führen. Dies lag darin begründet, daß die Antikörper an Gewebszellen des Kin-

des gebunden wurden und den Kreislauf nicht erreichten. Es könnte jedoch auch damit zusammenhängen, daß die Bildung von Leukozyten mit der immunologischen Zerstörung von Leukozyten Schritt hielt.

Die Angaben über das Auftreten von lymphozytotoxischen Antikörpern im Serum gravider Frauen zur Zeit der Geburt schwankten bei Erstgebärenden zwischen 9,6% und 18,4% , bei mehrfach Gebärenden zwischen 13% und 25%. (OVERWEG et al., 1969; BERTRAMS et al., 1970; NYMAND et al., 1971a; TONGIO et al., 1972; MÜLLER-ECKHARDT et al., 1972; NYMAND, 1974; SIMONNEY et al., 1984; TAIT et al., 1974;).

CARBONARA et al. (1974) prüften die Anwesenheit von lymphozytotoxischen Antikörpern im Serum von schwangeren Frauen mit Hilfe der komplementabhängigen Lyse (CdL) und der Lymphozytenantikörper lytischen Interaktion (LALI) . Im ersten Fall lag der Anteil an Seren mit Antikörpern bei 15,3% bis 25,8% , im zweiten Fall bei 41,0% . Die Unterschiede erklärten sich durch die höhere Empfindlichkeit der LALI-Technik. Der hohe Anteil an positiven Seren spricht dafür, daß die Alloimmunisierung während der Schwangerschaft ein generelles und physiologisches Phänomen darstellt.

Auch GATTI et al. (1979) gingen davon aus, daß es sich bei der Bildung dieser Antikörper um ein physiologisches Geschehen handelt.

Von 275 Seren schwangerer Frauen enthielten nach NYMAND (1975a) zur Zeit der Geburt zehn Seren nur Komplement-fixierende Thrombozytenantikörper (CFPAb), 41 Seren CFPAb und lymphozytotoxische Antikörper und 224 Seren nur lymphozytotoxische Antikörper. Antikörper die zur Zeit der Entbindung nachgewiesen werden konnten, nahmen danach in ihrem Antikörpertiter ab oder verschwanden ganz. Nur bei 20-30% der Frauen war mit Persistenz der Antikörper zu rechnen (BERTRAMS et al., 1970). Nur in wenigen Fällen konnten die Antikörper erst nach der Entbindung nachgewiesen werden. (NYMAND 1975a, OVERWEG et al. 1969). Nach BERTRAMS et al. (1970) erfolgte die Immunisierung im ersten bis vierten Monat der Schwangerschaft durch aktiven Übertritt von foetalen Leukozyten.

Von primiparen und multiparen Frauen konnten ebenso viele gut definierte Seren gewonnen werden. Durch die Persistenz eines Leukozytenantikörpers bis zur nächsten Schwangerschaft kam es im Serum multiparen Frauen zur Ausbildung polyvalenter Lymphozytenantikörperpopulationen (TONGIO et al., 1972).

Im Blut der Nabelschnur konnten OVERWEG et al., (1969) keine leukozytotoxischen Antikörper nachweisen.

TONGIO et al. (1975) zeigten, daß HL-A Antikörper, die nicht im Serum des Kindes nachweisbar waren, auf der Plazenta fixiert waren, von der sie in vitro gewonnen werden konnten. Dies wies auf die wichtige Rolle der Plazenta beim Durch-

tritt von Antikörpern durch die Plazentaschranke hin.

TAIT et al.(1974) untersuchten im Leukozyten-Migrations-test die mütterliche, zellvermittelte Immunität gegenüber foetalen Transplantationsantigenen, die zur Zeit der Geburt auf Lymphozyten der Nabelschnur zu finden waren. Sie fanden keine Korrelation zwischen dem Vorkommen von lymphozyto-toxischen Antikörpern, die im Mikrozytotoxizitätstest erfaßt wurden, und einem positiven Leukozyten-Migrationstest.

Für NYMAND et al.(1971b) und NYMAND (1975b) war keine signifikante Zuordnung von zytotoxischen Antikörpern zu Aborthäufigkeit, Frühgeburt, Mißbildungen, Totgeburt, Albuminurie und anderen Erkrankungen möglich.

Mit dem Nachweis von foetalen Zellen im mütterlichen Blut während der Schwangerschaft mit einem männlichen Kind mit Hilfe des Y-Chromatins haben SCHRÖDER et al.(1972), SIEBERS et al. (1975) und FAUST(1976) den Übertritt von foetalen Lymphoidzellen vom Foetus in den mütterlichen Kreislauf belegt.

GLEICHMANN et al.(1975) konnten bei 96,3% der untersuchten Frauen lymphozytotoxische und/oder leukozytenagglutinierende Antikörper nach einer einmaligen Bluttransfusion nachweisen.

Nach LINDBLOM et al. (1972) ist Sterilität positiv assoziiert mit einigen selten vorkommenden HL-A Genkombinationen.

GELABERT et al. (1981) berichteten über ein vermehrtes Vorkommen von zytotoxischer Aktivität im Serum von Frauen mit zwei oder mehr früheren Aborten im Vergleich zu Frauen mit nur einem Abort. Frauen mit sich wiederholenden spontanen Aborten zeigten nach BEER et al. (1985) keine signifikanten Unterschiede in ihren HL-A Antigenprofilen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Sie bildeten keine humoralen Alloantikörper gegen B-Zell-Alloantigene.

Die von OVERWEG et al. (1969) nachgewiesenen Antikörper gehörten alle der IgG-Fraktion an. NYMAND (1974) berichtete, daß die lymphozytotoxischen Antikörper zwei unterschiedlichen Globulinklassen angehören.

2.2.2. Rind

Bei primiparen Rindern konnten ante partum in 4,8% bis 9% der untersuchten Serumproben lymphozytotoxische Antikörper nachgewiesen werden. (NEWMAN et al., 1979; HINES et al., 1980; NEWMAN et al., 1980; AMORENA et al., 1982; DUFTY et al., 1985). Die Antikörpertiter waren sehr niedrig (1:1 bis 1:2).

NEWMAN et al. (1980) und HINES et al. (1980) konnten diese Antikörper nicht vor dem zehnten Tag ante partum nachweisen.

Post partum waren in 30% bis 40% der Serumproben von primiparen Rindern lymphozytotoxische Antikörper zu finden .

(NEWMAN et al.,1979,1980; HINES et al.,1980;)

Bei multiparen Tieren waren lymphozytotoxische Antikörper in 46% bis 65% der untersuchten Seren zu identifizieren.

(AMORENA et al.,1982; DUFTY et al.,1985) Bei Tieren mit mehreren Trächtigkeiten waren die Antikörper während der Trächtigkeit bereits zu einem früheren Zeitpunkt nachweisbar (HINES et al., 1980,1981; DUFTY et al.,1985), die Antikörpertiter waren höher (NEWMAN et al. 1979; DUFTY et al.,1985) und die Seren zeigten eine breitere Spezifität (HINES et al. 1980; DUFTY et al., 1985).

Nach SPOONER et al. (1978) waren allerdings in nur 14% der Seren multiparer Tiere Antikörper mit ausreichend hohem Titer nachzuweisen.

NEWMAN et al.(1979,1980) gaben als Grund für die fehlenden Antikörper im Serum von primiparen Rindern vor dem Abkalben unter anderem den Bau der Plazenta epitheliochorialis an, die eine starke Barriere darstellt, das foetale und das mütterliche System sehr gut getrennt hält und die Sensibili-

sierung der Mutter auf die Zeit der Geburt beschränkt.

Nach NEWMAN et al. (1980) lag die lymphozytotoxische Aktivität in der IgG- und der IgM-Fraktion.

Tiere mit ähnlichen Antikörperspezifitäten in der ersten und zweiten Trächtigkeit, zeigten früher in der zweiten Trächtigkeit das Auftreten von Antikörpern als Tiere mit unterschiedlichen Spezifitäten (HINES et al., 1980).

Die Antikörpertiter lagen nach NEWMAN et al. (1979) und HINES et al. (1981) im ersten Monat nach dem Abkalben am höchsten, sanken dann zum Teil ab oder blieben über einige Monate erhalten.

Nach AMORENA et al. (1982) nahm der Titer der lymphozytotoxischen Antikörper zur Zeit des Abkalbens dramatisch ab und blieb danach auf niedrigem Niveau bis zu zwei Jahren bestehen. Dies war zu erwarten, da die Antikörper zum Zeitpunkt der Geburt im Kolostrum angereichert sind. Im Serum von neugeborenen Kälbern konnten lymphozytotoxische Antikörper nur nach Aufnahme der Kolostralmilch nachgewiesen werden. Die Serumantikörper der Kälber zeigten ein Reaktionsmuster, das dem der Antikörper im mütterlichen Serum sehr ähnlich war. Alle Ergebnisse zusammen ließen es als sehr wahrscheinlich erscheinen, daß die Kälber die Antikörper aus dem Kolostrum ihrer Muttertiere aufnahmen.

Es ist nicht verwunderlich, daß nach dem ersten Saugakt beziehungsweise nach 24 Stunden die Titer der lymphozytotoxischen Antikörper im Kolostrum sehr niedrig waren.

BoLA-Antikörper gefährdeten nach Untersuchungen von MATOUSEK et al. (1984) normale Trächtigkeiten und Trächtigkeiten nach erstmaligem Embryotransfer immunologisch nicht. Nach zwei- bis dreimaligem Embryotransfer von der selben Spenderkuh kam es jedoch in 11 Fällen zum embryonalen Fruchttod. In neun dieser Fälle waren BoLA-Antikörper nachweisbar.

GRZYBOWSKI et al. (1984) untersuchten die Seren von zwei primiparen Rindern, die durch den Foetus während der Trächtigkeit über den Haplotyp W 16 (M') beziehungsweise über einen anderen BoLA-Haplotyp sensibilisiert wurden. Einige Monate später entwickelten die Kühe nach einer Hauttransplantation von ihrem jeweiligen Kalb sehr starke BoLA-Klasse I-Antisera (Antikörpertiter 1:32 bzw. 1:64). Neben der anti-W 16-Aktivität entwickelte eine dieser Kühe auch eine sehr starke anti-M'-Aktivität.

2.2.3. Pferd

LAZARY et al. (1975) untersuchten Seren von trächtigen Stuten mit lymphozytotoxischen Antikörpern, die gegen Lymphozytenantigene des Fohlens gerichtet waren, die aus dem väterlichen Erbgut stammten. In 15 von 19 untersuchten Seren, die von multiparen, trächtigen Stuten stammten, konnten lymphozytotoxische Antikörper verschiedener Spezifitäten identifiziert werden. Antiseren von Stuten, die schon von unterschiedlichen Hengsten gedeckt worden waren, waren sehr polyvalent.

In 85% der untersuchten Seren trächtiger Vollblutstuten gelang BRIGHT et al. (1978) der Nachweis von gegen Lymphozyten gerichteten Antikörpern. Sie konnten vier verschiedene ELA-Antigene beim Pferd identifizieren, die Ca (Cambridge) 1-4 benannt wurden und unter der genetischen Kontrolle eines Locus standen.

Die Seren von 102 Stuten, unmittelbar nach der Geburt ihrer ersten Fohlen entnommen, untersuchten DE WECK et al. (1978). In vielen dieser Seren konnten lymphozytotoxische Antikörper nachgewiesen werden, die gegen den ganzen Haplotyp aus dem väterlichen Erbgut und nicht gegen einzelne Antigene gerichtet waren.

ANTCZAK (1980) und BAILEY (1980) konnten sieben beziehungsweise 15 verschiedene Lymphozytenspezifitäten unterscheiden. Nach BAILEY (1980) lassen sich auch Untergruppen differenzieren.

Über das Auftreten einer neonatalen Isoimmunleukopenie berichteten LEIDL et al. (1980). Lymphozytotoxische Antikörper im Serum der Stuten, die gegen die Lymphozyten der Hengste, von denen die Fohlen stammten, gerichtet waren und über das Kolostrum vom Fohlen aufgenommen wurden, wurden für die Erkrankung verantwortlich gemacht.

2.2.4. Schwein

Bei 95% der untersuchten Mutterschweine konnten SCHMID et al. (1978b) im Serum lymphozytotoxische Antikörper feststellen. Vielfach war dies gleichzeitig auch im Kolostrum möglich. In 67% der Fälle waren die Antikörper gegen die Blutgruppe A gerichtet, in 28% waren sie gegen andere Lymphozytenantigene gerichtet. Eine isoimmune neonatale Leukopenie mit einer Auswirkung auf die Aufzucht und Abwehr der Ferkel war äußerst selten.

2.2.5. Schaf

FORD et al. (1974) wiesen in 52,1% der Seren multiparer Schafe zytotoxische leukozytäre Antikörper nach. Eine Immuni-

sierung des Muttertieres durch den Foetus schien nach GALTON (1965) und ANDERSON (1970) häufiger vorzukommen als bisher angenommen. In 50% der Seren von Mutterschafen fanden CULLEN et al. (1980) lymphozytotoxische Antikörper. Damit wurden die Untersuchungen von FORD et al. (1974) bestätigt.

2.2.6. Ziege

Der Nachweis von zehn Klasse I - Antigenen (A bis J) gelang VAN DAM et al. (1976) mit lymphozytotoxischen Alloantiseren, die durch intrafamiliäre Kreuzimmunisierung, durch Immunisierung von nicht verwandten Tieren oder aus Seren multiparer Ziegen gewonnen worden waren.

In 20% der Seren multiparer Ziegen waren lymphozytotoxische Antikörper nachweisbar. Diese Antikörper waren aufgrund eines foetomaternalen Zellaustausches während der Trächtigkeit entstanden (VAN DAM 1981).

2.3. Natürliche Antikörper

Mäuse verschiedener Stämme produzierten nach HANNA et al. (1972), OLDSTONE et al. (1972), IHLE et al. (1973) und NOWINSKI et al. (1974) natürliche Antikörper gegen Viruspartikel. AOKI et al. (1966) beschrieben die Bildung von natürlichen Antikörpern gegen virusassoziierte Zelloberflächenantigene.

IVANŮI et al. (1982) berichteten über das Auftreten von natürlich vorkommenden lymphozytotoxischen H-2 spezifischen Antikörpern im Serum von Mäusen.

CERNÝ-PROVAZNIK et al. (1985) beobachteten im Serum von Mäusen natürliche, autoreaktive H-2 spezifische Antikörper. Sie legten nahe, daß diese durch einen Komplex von eigenen H-2 Antigenen und fremden Antigenen ausgelöst wurden.

CERNÝ-PROVAZNIK et al. (1986) stellten fest, daß diese Antikörper nur kurze Zeit nachweisbar waren. Alle Mäuse, die in ihrem Serum diese natürlichen autoreaktiven H-2 spezifischen Antikörper besaßen, zeigten im Vergleich zu den seronegativen Kontrollmäusen kürzere Überlebenszeiten. Es konnten keine Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Antikörpern und Erkrankungen festgestellt werden.

Das Vorkommen von autoreaktiven H-2 spezifischen Antikörpern im Serum wurde als die Folge einer unspezifischen Stimulation

eines dominanten, autoreaktiven Zellklones in bestimmten Mäuseinzuchtstämmen diskutiert (IVANYI et al., 1982; CERNY-PROVAZNIK et al., 1985).

Eine weitere Erklärung für das Auftreten von autoreaktiven, H-2 spezifischen Antikörpern sah man in Umwelteinflüssen (IVANYI et al., 1982), oder einer durch Genkonversion bedingten somatischen Variation, die die Ausbildung von eigenen MHC-Antigenen verändern (IVANYI et al., 1982; RITZEL et al., 1984; CERNY-PROVAZNIK et al. 1986).

CERNY-PROVAZNIK et al. (1985) diskutierten auch eine körperfremde Substanz, die eine H-2^d oder H-2^s ähnliche antigene-tische Determinante trägt, und zur Produktion von eigenen H-2^d spezifischen Antikörpern führt.

Beim Huhn beschrieben LONGENECKER et al. (1980) die Existenz von natürlichen Antikörpern gegen Erythrozyten. Sie konnten zeigen, daß diese Antikörper vor allem gegen MHC-Produkte auf der Membran von Hühnererythrozyten gerichtet waren.

NEU et al. (1984) untersuchten Seren von gesunden Hühnern und Seren von Hühnern mit spontaner Autoimmun-Thyroiditis vergleichend auf das Auftreten von natürlichen Antikörpern gegen MHC-Antigene auf Erythrozyten. Diese Antikörper traten in beiden Gruppen in nahezu gleicher Häufigkeit auf. Auch die Höhe der Antithyroglobulin Autoantikörpertiter bei den erkrankten Tieren hatte keinen Einfluß auf das Auftreten von natürlichen Antikörpern.

Das Auftreten von monospezifischen anti-HLA-A8 zytotoxischen Antikörpern in der IgM-Fraktion des Serums einer nulliparen Frau, die keine Bluttransfusion erhalten hatte, beschrieben COLLINS et al. (1973). Die Frau war an chronischer Thyroiditis und in der Vergangenheit wiederholt an Infektionen des Respirationsapparates erkrankt gewesen. COLLINS et al. (1973) diskutierten den Zusammenhang zwischen der anti-HLA-A8 Aktivität im Serum der Frau und einer Stimulation durch virale oder bakterielle Antigene, die Kreuzreaktionen mit dem HLA-System zeigten.

Kreuzreaktionen zwischen Streptokokken M-Protein und menschlichen Histokompatibilitätsantigenen beschrieben HIRATA et al. (1970), RAPAPORT (1970) und PELLEGRINO et al. (1972). FOX et al. (1970) konnte keine serologische Kreuzreaktivität zwischen Streptokokken M-Protein und menschlichen Histokompatibilitätsantigenen zeigen.

MITTAL et al. (1973) untersuchten die Hemmung von anti-HLA Alloantisera durch Glykoproteine, Polysaccharide und Lipopolysaccharide, die vor allem bakteriellen Ursprungs waren. Sie berichteten über Kreuzreaktionen dieser Substanzen mit bestimmten anti-HLA Antisera.

Nach einer Infektion mit Streptokokken der Gruppe A, Staphylococcus aureus oder Staphylococcus albus kam es beim Meerschweinchen, Maus, Ratte und Kaninchen zu einer Sensibili-

sierung gegenüber HLA -Antigenen, die von einer Sensibilisierung nach Transplantation von homologen Gewebe nicht zu unterscheiden war (RAPAPORT et al. 1966, RAPAPORT 1974).

TONGIO et al. (1985) legten aufgrund ihrer Untersuchungen nahe, daß natürliche HLA-Antikörper bei einem Prozent der gesunden Blutspender gefunden werden könnten. Diese Antikörper konnten nur mit B-Lymphozyten als Zielzellen im lymphozytotoxischen Test oder durch indirekte Immunfluoreszenz unter Verwendung von Lymphozyten aus peripherem Blut nachgewiesen werden. Mehr als die Hälfte der bisher identifizierten natürlichen Antikörper zeigte die Spezifität HLA-B8.

Über verschiedene Theorien , die das Auftreten von natürlichen HLA-Antikörpern erklären berichteten TONGIO et al. (1985). Sie beziehen sich dabei auf die bereits bei der Maus von IVANÝI et al. (1982) diskutierten Theorien.

LEPAGE et al. (1976) berichteten über das Vorkommen eines "natürlichen" anti-HLA-A2-Antikörpers im Serum eines 33-jährigen Mannes, bei dem es sich um keinen Autoantikörper handelte. Als wahrscheinlichen Grund für das Auftreten dieses Antikörpers diskutierten sie ein sehr ungewöhnliches Persistieren von mütterlichen Zellen im Foetus, wodurch es eher zu einer Immunisierung als zur Ausbildung einer Toleranz kam.

Beim Rind beschrieben DUFTY et al. (1985) das Auftreten von lymphozytotoxischen Antikörpern mit einem Antikörpertiter von 1:32 bis 1:64 bei einem primiparen Rind. Diese Antikörper konnten bereits vor dem Decken, während der Trächtigkeit und beim Kalben nachgewiesen werden.

2.4. Lymphozytenisolierung

Für die serologische Untersuchung von Lymphozytenantigenen sind reine Lymphozytensuspensionen erforderlich. Sie müssen frei von Erythrozyten, Granulozyten und Thrombozyten sein (THORSBY et al. 1970; OTTO et al. 1970).

Zur Gewinnung von Leukozyten kann beim Menschen, Pferd, Schwein und Huhn die Spontansedimentation der Erythrozyten genutzt werden (FALLON et al. 1962; BÖYÜM 1964; OTTO 1970; HARRIS et al. 1970; SCHOLLE et al. 1972).

Nach UHLENBRUCK (1971) kann dieses Verfahren beim Rind und Schaf nicht angewandt werden, da die Erythrozyten dieser Tiere aufgrund der Ladungsverhältnisse ihrer Membranen nicht spontan sedimentieren.

THORSBY et al. (1970) und BÖYÜM (1974) beschrieben ein Zell-

trennverfahren mit Ficoll, einem hochmolekularen Polysaccharid, in Kombination mit dem Röntgenkontrastmittel Isopaque.

Zur Isolierung von Lymphozyten aus menschlichem Blut erwies sich die modifizierte Säulentrennung nach der von BRANDT et al. (1962) angegebenen Methode als beste Technik zur Gewinnung reiner Lymphozytensuspensionen.

KISSMEYER-NIELSEN et al. (1967) haben eine Lymphozytenisolierung durch Flotation in Rinderalbumin empfohlen.

OTTO et al. (1970), OTTO (1970) und SCHOLLE et al. (1972) beschrieben ein Dichtegradientenverfahren unter Einsatz des jodhaltigen Röntgenkontrastmittels Uromiro.

Eine Vorbehandlung der Lymphozyten mit dem Ziel einer höheren Empfindlichkeit gegenüber dem Komplement beschrieben verschiedene Autoren. Dies konnte durch Zusatz von proteolytischen Enzymen (MITTAL et al. 1969; BRAUN et al. 1972; GIBOFISKY et al. 1972), Neuraminidase (YUNIS et al. 1970), oder Sulfhydryl-Verbindungen (MERCURIALI et al. 1971; SIRCHIA et al. 1973) erreicht werden.

2.5. Methoden zum Nachweis von Lymphozytenantigenen

Zelluläre Antigene lassen sich serologisch im Agglutinations-test und im zytotoxischen Test nachweisen.

Als Methode der Wahl hat sich der zytotoxische Test bewährt.

Zum Nachweis von lymphozytotoxischen Antikörpern im Serum des Menschen wird die Zweifarben-Fluoreszenzmethode empfohlen (CAMBON-THOMSEN et al. 1985).

2.5.1. Makro- und Mikrozytotoxizitätstest

Im Zytotoxizitätstest ist eine komplementabhängige Antigen-Antikörperreaktion nachweisbar. Beim Vorliegen von lymphozytotoxischen Antikörpern im Serum und dem korrespondierenden Antigen an der Zellmembran von Lymphozyten kommt es zu einer reaktionsbedingten Membranschädigung. Diese kann nach Zugabe von Vitalfarbstoffen, wie Eosin oder Trypanblau, sichtbar gemacht werden. Geschädigte und damit angefärbte Zellen können im Farbausschluß im Phasenkontrastmikroskop von nicht geschädigten Zellen unterschieden werden. Gefärbte Zellen zeigen eine positive Reaktion an, ungefärbte Zellen eine negative Reaktion. Die Auswertung des Testes erfolgt durch Beurteilung des prozentualen Anteils der geschädigten und damit gefärbten Zellen.

Zwei im Prinzip identische Methoden stehen zur Verfügung, die sich nur in der Menge des einzelnen Versuchsansatzes unterscheiden.

Der Makrotest, von ENGELFRIET et al. (1965) und WALFORD et al. (1965) beschrieben und der Mikrotest (TERASAKI et al. 1964; AMOS 1966; KISSMEYER-NIELSEN et al. 1967; MITTAL et al. 1968; DAUSSET 1969; WALFORD 1969; AMOS et al. 1969; UNGER et al. 1971; SIRCHIA et al. 1973; ALBERT 1973;)

Heute gilt die Mikromethode als international anerkannte Standardmethode (ALBERT 1973; BYRNS 1985).

RUDER et al. (1984) und SINNOTT et al. (1985) berichteten über die Möglichkeit, die Lymphozyten in Mikrotestkammern einzufrieren und so das zeitaufwendige Isolieren und Waschen der Zellen nicht am Versuchstag durchführen zu müssen.

2.6. Fraktionierung von Antilymphozytenserum

Durch Absorption mit Lymphozyten können aus polyvalenten Antilymphozytenserum mono- oder oligovalente Seren hergestellt werden.

Reagieren Antigene einer Spezifität mit den entsprechenden Antikörpern im Serum, so darf, nach vollständiger Absorption, dieses Serum nicht mehr mit dem entsprechenden Antigen

reagieren. Nach unvollständiger Absorption muß das Serum einen wesentlich niedrigeren Antikörpertiter zeigen.

In der Literatur werden keine einheitlichen Angaben über die zur Absorption erforderliche Zellzahl im Verhältnis zum Antikörpertiter, die Absorptionsdauer und die Inkubationstemperatur gemacht (KISSMEYER-NIELSEN 1967; MARSMAN et al. 1970; SIMON et al. 1971; DORF et al. 1972; SCHMID et al. 1972; IHA et al. 1973; COLOMBANI et al. 1976; SPOONER et al. 1980; DUFTY et al. 1985).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Versuchsmaterial und Versuchsaufbau

Die vorliegende Arbeit mußte aufgrund unterschiedlicher Materialien und verschiedener Arbeitsschritte in mehrere Teilabschnitte getrennt werden.

Im ersten Teil standen gesammelte Serumproben zur Verfügung, die von 284 Rindern gewonnen wurden. Es handelte sich dabei um sehr heterogenes Untersuchungsmaterial.

Drei Rinderrassen wurden bei den Untersuchungen berücksichtigt:

Deutsche Fleckvieh

Deutsches Braunvieh

Holstein Friesian

Von 42 Rindern wurden Serumproben ante partum gewonnen, bei 242 Rindern innerhalb der ersten 4 Wochen nach dem Abkalben.

93 Seren stammten von primiparen Rindern, 191 Seren wurden bei multiparen Tieren gewonnen.

Die Fleckviehkühe waren von 55, die Braunviehkühe von vier-

zehn und die Holstein Friesian Kühe von sechs verschiedenen Bullen gedeckt.

Die Fleckviehkühe standen in 64 mittelgroßen Betrieben (Betriebsgröße ungefähr 10 - 25 Milchkühe) . Alle diese Betriebe sind im Ries. Die Holstein Friesian Kühe sind im Besitz des Lehr- und Versuchsgutes der Universität München in Oberschleißheim. Aus dem Allgäu stammten die Blutproben der Braunviehkühe . Dort standen uns vier mittelgroße Betriebe zur Verfügung.

Die für die Tests benötigten Lymphozyten waren im ersten Teil der Arbeit von Schlachttieren aus dem Schlachthof München.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden im Rahmen des III.Internationalen BoLA Vergleichstests^{*)} sieben der im ersten Teil berücksichtigten Seren zusammen mit 275 Antilymphozytenserien anderer am Vergleichstest teilnehmender Laboratorien getestet.

An diesem Vergleichstest beteiligten sich 21 Laboratorien aus 13 Ländern. Jedes Laboratorium testete die ihm zugesandten 282 Seren gegen Lymphozyten von mindestens 60 nicht verwandten Rindern. Im Ganzen wurde mit Lymphozyten von 1481 Rindern der Spezies Bos Taurus und der Spezies Bos indicus von zusammen 48 Rassen getestet.

*) Der III.Internationale BoLA-Vergleichstest fand anlässlich des 20. ISABR-Kongresses in Helsinki 1986 statt.

Zusätzlich zu den 282 Seren des internationalen Vergleichstestes wurden in unserem Institut weitere 83 Seren der im ersten Teil berücksichtigten ALS in die Untersuchungen einbezogen.

In diesem Abschnitt der Arbeit wurden Lymphozyten von 36 Rindern des Lehr- und Versuchsgutes der Universität München in Oberschleißheim und von 24 Rindern der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub eingesetzt. Dabei handelte es sich um Tiere der folgenden Rassen:

Deutsches Fleckvieh

Deutsches Braunvieh

Holstein Friesian

Pustertaler Sprinzen

Diese Tiere standen uns während den weiteren Versuchen zur Verfügung.

Die Tiere der Rasse Deutsches Fleckvieh wurden im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest als "Simmental" bezeichnet.

Im dritten Teil der Arbeit wurden die eigenen ALS einer Absorptions- und Titrationsanalyse unterzogen.

3.1.2. Serumgewinnung

Für die vorliegende Arbeit wurden Seren von Rindern gewonnen, bei denen nach Trächtigkeit eine Antikörperbildung gegenüber Lymphozytenantigenen zu erwarten war.

Zur Serumgewinnung dienten hochträchtige Kühe beziehungsweise Kühe kurz nach dem Abkalben. Je Tier wurden 500 Milliliter Blut aus der Vena jugularis entnommen und bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Am nächsten Tag wurden die Proben im Institut für Blutgruppenerforschung in Grub 30 Minuten bei $2500g$ zentrifugiert. Die abgezogenen Seren wurden bei -20°C unverdünnt aufbewahrt.

Die Probenentnahme und Serumgewinnung erstreckte sich auf die Zeit von Oktober 1983 bis Dezember 1984.

3.1.3. Lymphozytenisolierung

Zur Lymphozytenisolierung aus peripherem Blut wurde stabilisiertes Blut verwendet. Acht Milliliter Blut aus der Vena jugularis wurde Stabilisator im Verhältnis 4:1 zugesetzt. Der Stabilisator hatte folgende Zusammensetzung:

Natriumchlorid	2,5 g
Natriumcitrat	30,0 g
Natriumcyanid	0,4 g
Streptomycin	0,5 g
Aqua dest.	ad 1000,0 ml

Der Stabilisator diente neben der Hemmung der Blutgerinnung auch der Verhinderung einer bakteriellen Verunreinigung des Blutes.

Die Isolierung der Lymphozyten erfolgte im Dichtegradientenzentrifugationsverfahren.

Uromiro¹ wurde durch Zugabe von destilliertem Wasser auf ein spezifisches Gewicht von 1.076 eingestellt. 3,5 ml stabilisiertes Blut wurden auf 3,0 ml Uromiro mit der Dichte von 1,076 überschichtet und 30 Minuten bei 400 g zentrifugiert. Die Erythrozyten und Granulozyten sedimentierten, die Lymphozyten und Thrombozyten reicherten sich in einer weißlich trüben Schicht zwischen Sediment und einem gelben Überstand an. Die weißlich trübe Schicht wurde mit einer Pasteurpipette abgezogen und in drei Waschvorgängen von den Thrombozyten getrennt. Bei jedem Waschvorgang wurden die Zellen in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und anschließend bei 100 g zehn Minuten zentrifugiert. Danach befanden sich

1) Dr. Franz Köhler Chemie

6146 Alsbach-Bergstraße

die Lymphozyten im Sediment und hafteten am Boden des Reagenzglases. Die Thrombozyten im Überstand wurden verworfen.

Befanden sich in der isolierten Lymphozytensuspension noch Erythrozyten, mußten diese durch Zusatz einer 0,85 %igen wässrigen Ammoniumchloridlösung zunächst hämolysiert werden. Dieser Hämolyse folgte eine 10 Minuten dauernde Zentrifugation bei 100 g und zwei weitere Waschvorgänge.

Für den Lymphozytotoxizitätstest wurden die gewaschenen Lymphozyten in physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und auf eine Dichte von $4,0 \times 10^9/l$ eingestellt.

3.1.4. Serologischer Nachweis der lymphozytotoxischen Antikörper

Zum Nachweis von lymphozytotoxischen Antikörpern erwies sich der Mikrozytotoxizitätstest als Methode der Wahl.

3.1.4.1. Mikrozytotoxizitätstest

Bei diesem Mikrotest handelt es sich um die von TERASAKI und MC CLELLAND (1964) eingeführte Methode.

Der Zytotoxizitätstest wurde in folgender Weise durchgeführt:

Die Mikrotestkammern¹ wurden mit Decköl² gefüllt, um eine Verdunstung und Austrocknung der Seren zu verhindern. Mit einer Hamilton-Mikroliterpipette³ wurden je ein Mikroliter Serum in die vorgesehenen Vertiefungen der Kammern pipettiert. Im zweiten Arbeitsgang wurden zu den Seren je ein Mikroliter Lymphozytensuspension der Zelldichte $4,0 \times 10^9/l$ hinzugegeben.

Der Testansatz wurde 30 Minuten bei Zimmertemperatur (22°C) inkubiert. Danach wurden fünf Mikroliter unverdünntes nicht absorbiertes Kanninchenserum als Komplement zugesetzt und 60 Minuten bei Zimmertemperatur (22°C) inkubiert. Nach der Inkubation wurden 0,5 Mikroliter einer 5 %igen wässrigen Eosinlösung⁴ einpipettiert. Nach weiteren fünf Minuten erfolgte die Fixierung der Reaktionen mit fünf Mikroliter einer 37 %igen Formalinlösung (pH 7,4).

Der Zytotoxizitätstest wurde im umgekehrten Phasenkontrastmikroskop⁵ bei 400-facher Vergrößerung abgelesen. Eine Ablesung war bis zu 24 Stunden nach Testansatz ohne Beeinträchtigung der Spezifität der Reaktionen möglich.

1) C.A. Greiner & Söhne GmbH & Co KG, D-7440 Nürtingen

2) Biotest-Serum-Institut GmbH Frankfurt am Main

3) Hamilton Syringe Co., Anaheim, California, USA

4) Eosin Art. 1345, E. Merck, Darmstadt

5) Wild (M 40), Heerbrugg, Schweiz

Beurteilt wurde der prozentuale Anteil der gefärbten und somit geschädigten Zellen nach folgendem Schlüssel:

Prozentsatz der geschädigten Lymphozyten	Reaktionsgrad
0 - 10 %	1
11 - 20 %	2
21 - 40 %	4
41 - 80 %	6
81 -100 %	8

In jedem Testansatz wurde physiologische Kochsalzlösung als Kontrolle mitgeführt, um Zellschädigungen, die nicht auf Antigen-Antikörperreaktionen zurückzuführen waren, zu erkennen.

Zur Vermeidung unspezifischer Reaktionen und eines Zonenphänomens wurden die Testseren stets 1:2 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt eingesetzt.

Es war möglich, die mit Decköl gefüllten Kammern nach dem Einpipettieren des Serums bei -20°C einzufrieren und am jeweiligen Tag die für den Test benötigte Anzahl an Kammern aufzutauen.

3.1.4.2. Mikrotitration

Mit der Mikrotitration kann unter Verwendung kleiner Serum-mengen die Titration durchgeführt werden.

Die Vertiefungen der Mikrotestkammern wurden zunächst mit je einem Mikroliter physiologischer Kochsalzlösung beschickt. Die erste Vertiefung blieb dabei frei. In diese wurden zwei Mikroliter des ALS einpipettiert. Davon wurde mit einer Hamilton-Mikrotiterspritze jeweils ein Mikroliter in die zweite Vertiefung übergeführt, mit der physiologischen Kochsalzlösung gut vermischt und dann mit der Mikrotiterspritze in einer geometrischen Verdünnungsreihe bis zu einer Verdünnung von 1:512 weitergeführt. Anschließend wurden die Kammern mit Decköl gefüllt.

Zur Vermeidung der Verdunstung des Testansatzes mußte die Titration möglichst schnell durchgeführt werden und die Mikrotestkammern sofort mit Decköl gefüllt werden.

Der Zytotoxizitätstest wurde wie zuvor beschrieben durchgeführt.

3.1.4.3. Antikörperfraktionierung durch Absorption

Für die Absorption wurden Lymphozyten aus peripherem Blut eingesetzt. Je nach Antikörpertiter der ALS wurde ein Milli-

liter ALS mit unterschiedlichen Mengen an Lymphozyten absorbiert.

Antikörpertiter der

ALS	1:2	1:4	1:8	1:16
-----	-----	-----	-----	------

Anzahl an Lymphozyten,				
------------------------	--	--	--	--

die zur Absorption	2×10^7	$2,5 \times 10^7$	3×10^7	4×10^7
--------------------	-----------------	-------------------	-----------------	-----------------

nötig sind

Die Lymphozytenisolierung erfolgte wie zuvor beschrieben. In diesem Fall mußte jedoch bei einer eventuellen Verunreinigung der Lymphozytensuspension mit Erythrozyten nicht hämolysiert werden, da diese die Absorption nicht beeinflussen.

Die Lymphozyten wurden in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und mit einem Milliliter unverdünntem Serum vermischt. Unter häufigem Schütteln wurde der Versuchsansatz 30 Minuten bei Zimmertemperatur (22°C) inkubiert. Anschließend wurde weitere 20 Minuten bei $+4^{\circ}\text{C}$ inkubiert. Die Zellen wurden bei 1000 g in der Kühlzentrifuge 10 Minuten abzentrifugiert. Das ALS wurde in ein zweites Reagenzglas übergeführt und ein zweites Mal mit 0,5 Milliliter frischer Lymphozytensuspension des selben Tieres absorbiert. Nach erneutem Abzentrifugieren in der Kühlzentrifuge bei 1000 g während 10 Minuten wurden die ALS bei -20°C aufbewahrt.

Die so gewonnenen absorbierten ALS wurden nun gegen die Lymphozyten der Tiere getestet, mit denen absorbiert wurde. So konnte die Absorption auf ihre Vollständigkeit überprüft werden.

Außerdem wurden die absorbierten ALS nochmals gegen alle Lymphozyten getestet, gegen die sie schon vor der Absorption getestet worden waren. Dadurch konnte festgestellt werden, welche Reaktionen den ALS durch die Absorptionen verloren gegangen waren. Dadurch war die Fraktionierung zu oligo-beziehungsweise monovalenten ALS aus polyvalenten ALS durch Absorption nachweisbar.

4. Ergebnisse

4.1. Lymphozytotoxische Antikörper im Serum von trächtigen Rindern

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden Seren von 284 Rindern getestet. Alle Seren stammten von Rindern, die entweder kurz vor oder kurz nach dem Abkalben waren.

96 der 284 untersuchten Rinderseren zeigten im Test gegen Lymphozyten von 60 Fleckviehrindern lymphozytotoxische Reaktionen. Dies entspricht einem Prozentsatz von 33,8%

Von den primiparen Rindern (93 Tiere) hatten 22,6% lymphozytotoxische Antikörper gebildet. Bei den multiparen Rindern lag der Prozentsatz bei 39,2% (Tabelle 1). Die Antikörpertiter bewegten sich bei den Primiparen im Bereich von 1:1 - 1:16, bei den Multiparen in einem Bereich von 1:1 - 1:256.

Tabelle 1 Lymphozytotoxische Antikörper im Serum von primiparen und multiparen Rindern

Anzahl der Trächtigkeiten	Anzahl der untersuchten Seren	Anzahl der Seren mit Antikörpern	Prozentsatz an Seren mit Antikörpern
1	93	21	22,6%
2	60	17	28,3%
3	53	22	41,5%
4	25	10	40,0%
5	28	14	50,0%
6-11	25	12	48,0%

Von den 15 ante partum untersuchten primiparen Rindern waren bei einem Rind lymphozytotoxische Antikörper im Serum nachweisbar. Das Serum war zehn Tage ante partum gewonnen worden. Der Antikörpertiter betrug 1:1 .

Von allen 43 ante partum gewonnenen Serumproben zeigten 16,3% positive Reaktionen im lymphozytotoxischen Test. Die Antikörpertiter bewegten sich in einem Bereich von 1:1 - 1:8. Der Hauptanteil der Seren hatte einen Antikörpertiter von 1:1 und 1:2 . Bei den post partum gezogenen Proben lag der Prozentsatz an Seren mit lymphozytotoxischen Antikörpern bei 36,9%, die Antikörpertiter in einem Bereich zwischen 1:1 und 1:256. Bei den meisten Seren lag dieser Titer zwischen 1:2 und 1:32.

Folgende Tabelle 2 zeigt das Auftreten von lymphozytotoxischen Antikörpern in Abhängigkeit von der Zeit zwischen der Abkalbung und der Blutentnahme.

Tabelle 2 Lymphozytotoxische Antikörper im Serum von Rindern post partum

Blutentnahme post partum	Anzahl der untersuch- ten Tiere	Anzahl der Seren mit Antikörpern	Prozentsatz an Seren mit Antikörpern	Antikörper- titer der Seren
0 - 1 Woche	84	33	39,2%	1:1-1:16
1 - 2 Wochen	61	22	36,1%	1:1-1:128
2 - 3 Wochen	70	22	31,4%	1:2-1:256
3 - 4 Wochen	26	12	46,1%	1:1-1:8

15 Rinderseren mit lymphozytotoxischen Antikörpern wurden auch mit Lymphozyten des Bullen getestet, mit dem die jeweilige Kuh zuletzt gedeckt worden war. Die lymphozytotoxischen Antikörper in 11 dieser Seren reagierten auch mit den Lymphozyten des Bullen, von dem die Kuh, vor der Blutentnahme zur Gewinnung dieses Serums, trächtig war. In vier Fällen war keine Zytotoxizität gegenüber den Lymphozyten des Bullen im Serum nachweisbar. Zwei dieser Seren stammten von primiparen Braunviehrindern, wurden 16 beziehungsweise 23 Tage post partum gewonnen und hatten einen Antikörpertiter von 1:2 beziehungsweise 1:8. Ein Serum mit einem Antikörpertiter von 1:8 wurde von einer Braunviehkuh 20 Tage nach dem vierten Abkalben gezogen. Das vierte dieser Seren stammte von einer Fleckviehkuh sieben Tage nach der zweiten Kalbung.

4.2. Antilymphozytenseren und ihre serologische Klassifizierung

Von den 284 Rinderseren zeigten einige im Test gegen die Lymphozyten von 60 Fleckviehrindern keine lymphozytotoxischen Reaktionen. Andere Seren reagierten mit Lymphozyten von allen oder nahezu allen 60 Tieren, während bei einer dritten Gruppe von Seren lymphozytotoxische Reaktionen nur mit Lymphozyten eines Teiles der 60 Tiere zu beobachten waren.

In dieser dritten Gruppe von Rinderseren konnten aufgrund der Reaktionen mit Lymphozyten der 60 Tiere bestimmte Reaktionsmuster, die in Rinderseren verschiedener Herkunft auftraten, festgestellt werden. Unter einem serologischen Reaktionsmuster versteht man ganz allgemein eine begrenzte Anzahl von Reaktionen eines Antilymphozytenserums (ALS) mit Lymphozyten einzelner Rinder bei der Untersuchung dieses ALS mit Lymphozyten einer größeren Anzahl von nicht verwandten Rindern.

Bei dieser Voruntersuchung hatten sich 13 verschiedene Reaktionsmuster ergeben. Aufgrund dieser Feststellungen wurden sieben ALS ausgewählt, die sich durch starke Reaktionen und Antikörpertiter zwischen 1:2 und 1:16 auszeichneten und erwarten ließen, daß es sich um ALS mit unterschiedlicher, gut definierbarer Spezifität handelte.

Diese sieben ALS wurden im Rahmen des III.Internationalen BoLA Vergleichstestes eingesetzt. Eine Auswahl war erforderlich, da nur eine begrenzte Anzahl von ALS von jedem am Vergleichstest teilnehmenden Institut eingesandt werden durfte.

Im Rahmen des III.Internationalen BoLA Vergleichstestes wurden 282 ALS aus verschiedenen Laboratorien mit Lymphozyten von 1481 Tieren getestet.

Aufgrund des großen Materials wurden die Reaktionen der 282 ALS mit den Lymphozyten der 1481 Tiere im zytotoxischen Test mit Hilfe eines Computers analysiert. Alle ALS wurden mit ei-

ner Kurzbezeichnung für das jeweilige Laboratorium und einer Nummer zur Identifikation des ALS gekennzeichnet. In unserem Fall war dies die Bezeichnung GWG (Grub West Germany) und eine dreistellige Nummer für das entsprechende ALS.

Ein Teil der in den Vergleichstest einbezogenen 282 ALS konnte aufgrund der Reaktionen mit den Lymphozyten der 1481 Tiere in verschiedene Gruppen (Cluster) von ALS mit gleichen Reaktionsmustern zusammengefaßt werden. Durch diese Cluster wurden unterschiedliche Lymphozytenantigene definiert.

Mit den sieben ALS aus unserem Laboratorium konnten drei verschiedene Lymphozytenantigene identifiziert werden. Zwei ALS konnten in ihrer Antikörperspezifität nicht eingeordnet werden.

Das Lymphozytenantigen W 2 konnte durch das ALS GWG 187 und acht weitere ALS aus sieben Laboratorien nachgewiesen werden.

Das Lymphozytenantigen W 6 wurde durch das ALS GWG 412 und das ALS GWG 415 sowie weitere 14 ALS aus 11 Laboratorien erfaßt.

ALS GWG 400 wurde mit weiteren 48 ALS aus 17 Instituten dem W 6-Komplex zugeordnet. Eine kritische Analyse der in den

einzelnen Laboratorien erhobenen Ergebnisse zeigte jedoch, daß dieses ALS noch polyvalent war.

Der Nachweis des Lymphozytenantigens W 8 erfolgte durch das ALS GWG 406 und neun andere ALS aus sieben Laboratorien.

ALS GWG 024 und ALS GWG 129 konnte keiner bisher bekannten Antikörperspezifität zugeordnet werden. Tabelle 3 zeigt die Reaktionsmuster der beiden ALS, die sich aufgrund der positiven Reaktionen im zytotoxischen Test mit den Lymphozyten der Simmental-Rinder unter den 1481 Tieren im III.Internationalen Vergleichstest ergaben.

Hierbei waren identische Reaktionen der beiden ALS mit den Zellen eines Teiles der Simmental-Rinder deutlich. Die Ergebnisse sprachen dafür, daß in diesen beiden ALS eine gemeinsame Antikörperpopulation enthalten ist, die durch die Lymphozyten der Tiere PWA 026 bis PWA 048 nachgewiesen wurden. Diesen Tieren konnte bisher nur eine Antigen-spezifität zugeschrieben werden.

Die Tatsache, daß ALS GWG 129 weitere lymphozytotoxische Reaktionen in diesem Test zeigte, spricht dafür, daß im ALS GWG 129 wenigstens eine weitere Antikörperpopulation enthalten ist, die durch die Tiere COL 735 bis BER 020 identifiziert wurde. Alle diese Tiere hatten im III.Internationalen BoLA Vergleichstest die Antigen-spezifität A gemeinsam.

Tabelle 3

Reaktionen der ALS GWG 024 und GWG 129 mit Lymphozyten von
Simmental-Rindern im III.Internationalen Vergleichstest

Laboratoriums- bezeichnung	Zell- nummer	Rasse	ALS GWG 024	ALS GWG 129	BoLA Workshop Spezifitäten
PWA	026	Simmental	+	+	4/10+7+4
PWA	042	Simmental	+	+	20
GWG	029	Simmental	+	+	20
PWA	016	Simmental	+	+	20
PWA	029	Simmental	+	+	20
PWA	046	Simmental	+	+	20
PWA	035	Simmental	+	+	C
PWA	043	Simmental	+	+	C
PWA	040	Simmental	+	+	C
GWG	009	Simmental	+	+	C
PWA	052	Simmental	+	+	-
PWA	039	Simmental	+	+	-
GWG	023	Simmental	+	+	6
GWG	033	Simmental	+	+	6, K
PWA	047	Simmental	+	+	A
PWA	048	Simmental	+	+	A
COL	735	Simmental		+	A 2
COL	742	Simmental		+	A 2
GWG	010	Simmental		+	A 2
GWG	030	Simmental		+	A 8, 8.2, 8+
PWA	918	Simmental		+	A 9, 9.1, 16+, F
COL	736	Simmental		+	A 10
COL	754	Simmental		+	A 10
GWG	007	Simmental		+	A B
BER	056	Simmental		+	A 16, 16+
PWA	001	Simmental		+	A 20, 16+
PWA	014	Simmental		+	A 16+
COL	749	Simmental		+	A 20
COL	734	Simmental		+	A 20
BER	028	Simmental		+	A 20
BER	021	Simmental		+	A 20
GWG	048	Simmental		+	A 20
COL	750	Simmental		+	A B
GWG	013	Simmental		+	A -
GWG	014	Simmental		+	A -
BER	019	Simmental		+	A -
BER	020	Simmental		+	A -

ALS GWG 129 stammte von einer primiparen Fleckviehkuh. Die Probe wurde 25 Tage post partum gewonnen. Die Kuh war mit dem gleichen Bullen gedeckt wie die Kuh, von der ALS GWG 024 gewonnen wurde. Die Probe GWG 024 wurde am Tag der Geburt des zweiten Kalbes gezogen. Es ist nicht auszuschließen, daß die in beiden ALS vertretene Antikörperpopulation durch identische väterliche Antigene im Foetus bedingt sein könnten.

Die ALS GWG 187, GWG 412, GWG 415 und GWG 406, die den international anerkannten Spezifitäten W 2, W 6, W 6 und W 8 entsprechen, sind in Tabelle 4 zusammen mit den ALS gleicher Spezifität aus anderen Laboratorien dargestellt. Die Tabelle zeigt die Reaktionsmuster dieser ALS im Test gegen die Lymphozyten der 60 Tiere, mit denen im zweiten Teil der Untersuchungen in unserem Laboratorium gearbeitet wurde.

Das ALS GWG 187 wurde dem Cluster W 2 zugeordnet. Bei der mit P eingezeichneten Reaktion des ALS GWG 187 (W 2) gegen die Lymphozyten GWG 10 handelt es sich um eine partielle Reaktion. Dies könnte auf den niedrigen Antikörpertiter (1:2) des ALS zurückzuführen sein. Außerdem könnte es sich bei Tier GWG 10 um einen schwachen Merkmalsträger für das Antigen W 2 handeln. ALS GWG 187 stammte von einem primiparen Fleckviehrind und wurde 12 Tage post partum gewonnen. Merkmalsträger

Erklärung der Bezeichnungen in den Tabellen 4 - 8

+ = Positive Reaktionen im Lymphozytotoxizitätstest mit
81 - 100% geschädigter Lymphozyten

P = Partielle Reaktionen

. = ALS aus unserem Laboratorium in Grub

Alle ALS wurden im III.Internationalen BoLA-Vergleichstest mit einem Kurznamen für das einsendende Laboratorium und einer dreistelligen Nummer bezeichnet. Diese Laboratoriumsbezeichnungen sind in folgender Übersicht dargestellt:

BER	Bern/Schweiz
CCN	Clay Center, Nebraska/USA
COD	Kopenhagen/Dänemark
COL	Columbus, Ohio/USA
CST	College Station, Texas/USA
DAV	Davis, Californien/USA
EDS	Edinburgh/Schottland
ELM	East Lansing, Michigan/USA
GWG	Grub/Westdeutschland
HWG	Hannover/Westdeutschland
ISF	Irene/Südafrika
ITH	Ithaca, New York/USA
IVC	Ivanka Pri Dunaji/CSSR
JEJ	Jouy en Josas/Frankreich
MIL	Mailand/Italien
NAK	Nairobi/Kenia
OSN	Oslo/Norwegen
PVA	Parkville/Australien
PWA	Perth/Westaustralien
UPS	Uppsala/Schweden
URB	Urbana, Illinois/USA

Tabelle 4

BoLA-Antigencluster

	W 2	W 6	K	W6.3	W8+	W8	W8,1	W8,2
	GUCOECJCC	HCICBUEGMUCUNOGU	NE	CEI	IIM	ICCIJJINGI	COEHU	BDE
	WRNSDDEMO	WQVSEPDWIPASHP	AD	OLT	SSI	SNOVSESANT	OADWTR	EAD
	GBNNSDJNL	GCTR55GLS2SKNGS	KS	LMM	FFL	FNOCFJFKGH	LVSGBB	RVS
	100000003	0001000450000040	00	803	000	0000000042	100020	001
	932005609	0304016150123019	19	101	011	1600161204	808017	210
	738122815	2935475237119653	03	382	531	8952297264	090152	225
GWG 010	P.....				GWG 010			
GWG 030					GWG 030	...		..
GWG 007					GWG 007			
GWG 048					GWG 048			
GWG 013					GWG 013			
GWG 014					GWG 014			
GWG 038					GWG C38			
GWG 015					GWG 015			
GWG 025					GWG 025	...		..
GWG 049					GWG 049			
GWG 033					GWG 033			
GWG 005					GWG 005			
GWG 003					GWG 003			
GWG 002					GWG 002			
GWG 023					GWG C23			
GWG 050					GWG C50			
GWG 016					GWG C16	...		..
GWG 017					GWG 017	...		..
GWG 044					GWG 044	...		..
GWG 027					GWG C27			
GWG 037					GWG 037			
GWG 040					GWG 040			
GWG 001					GWG 001			
GWG 035					GWG 035			
GWG 012					GWG 012			
GWG 026					GWG C26			
GWG 004					GWG 004			
GWG 056					GWG C56			
GWG 057					GWG C57			
GWG 006					GWG 006			
GWG 011					GWG 011			
GWG 031					GWG C31			
GWG 034					GWG 034			
GWG 054					GWG 054			
GWG 058					GWG C58			
GWG 024					GWG 024			
GWG 042					GWG 042			
GWG 041					GWG 041			
GWG 008					GWG 008			
GWG 019					GWG C19			
GWG 019					GWG 019			
GWG 020					GWG 020			
GWG 021					GWG 021			
GWG 022					GWG 022			
GWG 028					GWG 028			
GWG 029					GWG C29			
GWG 029					GWG 029			
GWG 032					GWG C32			
GWG 036					GWG 036			
GWG 039					GWG C39			
GWG 043					GWG 043			
GWG 045					GWG 045			
GWG 046					GWG C46			
GWG 047					GWG 047			
GWG 051					GWG 051			
GWG 052					GWG C52			
GWG 053					GWG 053			
GWG 059					GWG 059			
GWG 005					GWG C05			
GWG 060					GWG 060			
GWG 055					GWG C55			

für das Antigen W 2 waren ein Fleckviehrind und eine Pustertaler Sprinze.

Die ALS im Cluster W 6 zeigten eine sehr hohe Übereinstimmung. ALS GWG 412 (W 6) hatte einen Antikörpertiter von 1:16 und wurde von einer Braunviehkuh 20 Tage nach dem vierten Abkalben gewonnen. ALS GWG 415 (W 6) wurde von einem primiparen Braunviehrind 13 Tage post partum gezogen. Der Antikörpertiter dieses ALS lag bei 1:4. Merkmalsträger für das Antigen W 6 waren Fleckvieh- und Holstein Friesian Rinder. Die beiden Braunviehkühe waren von unterschiedlichen Bullen gedeckt.

Auch die ALS der Spezifität W 8 reagierten in fast vollständiger Übereinstimmung mit fünf Rindern der Rassen Deutsches Fleckvieh, Holstein Friesian, Braunvieh und Pustertaler Sprinze. ALS GWG 406 (W 8) hatte einen Antikörpertiter von 1:4. Es stammte von einer Braunviehkuh. Die Blutprobe wurde 25 Tage nach der Geburt des zweiten Kalbes entnommen.

ALS GWG 024 konnte keiner bekannten Antikörperspezifität zugeordnet werden. Ebenso konnte ALS GWG 129 in seiner Antikörperspezifität nicht eingeordnet werden.

Tabelle 5 zeigt die Reaktionsmuster der ALS GWG 024 und GWG 129, sowie diejenigen der ALS der Spezifität A anderer Laboratorien, im Test gegen die Lymphozyten der 60 Tiere, die im zweiten Teil der Untersuchungen zur Verfügung standen.

Tabelle 5 Reaktionsmuster der ALS GWG 024 und GWG 129
sowie der ALS der Spezifität A

A		*	*
	CEEC	G	G
	ODDO	W	W
	DSSD	G	G
	0110	0	1
	3021	2	2
	3737	4	5
GWG 010	+++		+
GWG 030	++++		+
GWG 007	+++		+
GWG 048	++++		+
GWG 013	+++		+
GWG 014	+++		+
GWG 038	+++		+
GWG 015	+		+
GWG 025			
GWG 049			
GWG 033		+	+
GWG 023		+	+
GWG 029		+	+
GWG 009		+	+
GWG 050			
GWG 016			
GWG 017			
GWG 044	+		
GWG 027			
GWG 037			
GWG 040			
GWG 001			
GWG 035			
GWG 012			
GWG 026			
GWG 004			
GWG 056			
GWG 057			
GWG 006			
GWG 011			
GWG 031			
GWG 034	+		
GWG 054			
GWG 058			
GWG 024			
GWG 042			
GWG 041			
GWG 008			
GWG 018			
GWG 019			
GWG 020			
GWG 021			
GWG 022			
GWG 028			
GWG 032			
GWG 036			
GWG 039			
GWG 043			
GWG 045			
GWG 046	++		+
GWG 047			
GWG 051			
GWG 052			
GWG 053			
GWG 059			
GWG 060			
GWG 055			
GWG 005			
GWG 003			
GWG 002	+		

In Tabelle 5 wird deutlich, daß ALS GWG 129 neben der noch nicht endgültig klassifizierten Spezifität von ALS GWG 024 die international gut definierte Spezifität A enthält.

Durch den Vergleich der uns anläßlich des III. Internationalen BoLA Vergleichstestes zugesandten computeranalysierten Reaktionsmuster mit denen der 83 aufgrund der Voruntersuchungen ausgewählten und im zweiten Teil der Arbeit gegen Lymphozyten von 60 Tieren miteingesetzten ALS, konnten unter diesen ALS einige weitere Antikörperspezifitäten identifiziert werden.

Die Reaktionsmuster dieser im zweiten Teil der Arbeit mituntersuchten ALS sind zusammen mit den ALS vergleichbarer Spezifität anderer Laboratorien in den Tabellen 6 dargestellt. Die ALS aus unserem Laboratorium wurden mit der Kurzbezeichnung Zi und einer Nummer zur Identifikation des ALS gekennzeichnet.

Identische Reaktionsmuster wurden bei den ALS Zi 24, Zi115, Zi 407 und einem ALS aus Bern/Schweiz (BER 018) beobachtet. Diese konnten jedoch noch nicht definiert werden. Tabelle 6a zeigt die Reaktionsmuster dieser ALS. Dabei waren von 60 Tieren vier Fleckviehrinder bei allen vier ALS Merkmalsträger für dieses Antigen. Bei Tier GWG 9 und GWG 29 handelte es sich um schwache Merkmalsträger für dieses Antigen, da

es bei ALS Zi 115 und ALS Zi 407 nur durch Absorption erfaßt werden konnte und das ALS BER 018 mit dem Tier GWG 9 nur eine partielle Reaktion zeigte.

ALS Zi 24 stammte von einer Fleckviehkuh. Die Probe wurde am Tag der Geburt des zweiten Kalbes gewonnen. Der Antikörpertiter betrug 1:4. Bei ALS 24 handelte es sich um das ALS, das im III.Internationalen Vergleichstest unter der Bezeichnung GWG 024 geführt wurde. ALS Zi 115, mit einem Antikörpertiter von 1:2, wurde von einer primiparen Fleckviehkuh zehn Tage nach dem Abkalben gewonnen. Von einer Kuh der Rasse Deutsches Braunvieh nach der zweiten Kalbung stammte das ALS Zi 407. Es wurde 23 Tage post partum gezogen und hatte einen Antikörpertiter von 1:4. Die Kühe waren von unterschiedlichen Bullen gedeckt.

Das Lymphozytenantigen W 8 wurde durch drei ALS aus unserem Laboratorium erfaßt. In Tabelle 6b sind diese ALS unter den Nummern Zi 135, Zi 204 und GWG 406 aufgeführt. Das ALS GWG 406 war anlässlich des III.Internationalen Vergleichstestes eingesandt worden.

ALS Zi 135 (W 8) wurde von einer Fleckviehkuh nach der zweiten Trächtigkeit gewonnen. Die Probe wurde zehn Tage post partum entnommen. ALS Zi 204 (W 8) wurde von einer Fleckviehkuh 11 Tage nach der Geburt des fünften Kalbes gewonnen und hatte einen Antikörpertiter von 1:2. Von einer Kuh der Braunviehrasse 25 Tage nach dem zweiten Abkalben stammte das ALS GWG 406 (W 8). Sein Antikörpertiter betrug 1:4.

Tabelle 6a

Reaktionsmuster der

ALS GWG 024, GWG 115

GWG 407 und BER 018

•	•	•	
Z	Z	Z	B
1	1	1	E
			R
0	1	4	0
2	1	0	1
4	5	7	8

GWG	010			
GWG	030			
GWG	007			
GWG	048			
GWG	013			
GWG	014			
GWG	038			
GWG	015			
GWG	025			
GWG	049			
GWG	033	+	+	+
GWG	005			
GWG	003			
GWG	002			
GWG	023	+	+	+
GWG	050			
GWG	016			
GWG	017			
GWG	044			
GWG	027			
GWG	037			
GWG	040			
GWG	001			
GWG	035			
GWG	012			
GWG	026			
GWG	004			
GWG	056			
GWG	057			
GWG	006			
GWG	011			
GWG	031			
GWG	034			
GWG	054			
GWG	058			
GWG	024			
GWG	042			
GWG	041			
GWG	008			
GWG	018			
GWG	019			
GWG	020			
GWG	021			
GWG	022			
GWG	028			
GWG	029	+		+
GWG	032			
GWG	036			
GWG	039			
GWG	043			
GWG	045			
GWG	046			
GWG	047			
GWG	051			
GWG	052			
GWG	053			
GWG	059			
GWG	009	+		1
GWG	060			
GWG	055			

Tabelle 6b

BoLA-Antigencluster W 8

W8+	W8	W8.1	W8.2
-----	----	------	------

12M	ICCIJINGIZZ	00EN19	80A
SSI	2HOVDEGAWT1	2A0WTR	EAS
FE	FNDCUFJKGH	LVSGHB	RV

000	000000004212	100020	001
011	160016120430	808017	210
531	895229726454	030152	225

[illegible]

Die drei Kühe waren von unterschiedlichen Bullen trächtig. Merkmalsträger für das Antigen W 8 waren zwei Rinder der Rasse Deutsches Fleckvieh und je ein Tier der Rassen Holstein Friesian , Deutsches Braunvieh und Pustertaler Sprinzen. Dem Cluster W 8, einschließlich seinen Untergruppen, wurden im III.Internationalen BoLA Vergleichstest 22 ALS aus 15 unterschiedlichen Laboratorien zugeordnet.

Das Lymphozytenantigen W 9 wurde durch zwei verschiedene ALS erfaßt. In Tabelle 6 c wurden diese ALS mit den Nummern Zi 408a und Zi 413 bezeichnet. ALS Zi 408a (W 9) wurde von einer primiparen Braunviehkuh 23 Tage post partum gewonnen. ALS Zi 413 (W 9) stammte von einer primiparen Braunviehkuh 16 Tage nach dem Abkalben. Die Kühe waren von verschiedenen Bullen gedeckt. Der Antikörpertiter des ALS Zi 408a (W 9) betrug 1:8, derjenige des ALS Zi 413 (W 9) lag bei 1:2. Merkmalsträger für dieses Antigen waren drei Fleckviehrinder und eine Pustertaler Sprinze. Unsere ALS waren mit ALS aus drei weiteren Laboratorien identisch.

Der Nachweis des Lymphozytenantigens H gelang durch die ALS Zi 197 und Zi 337 (Tabelle 6d). ALS Zi 197 (H), das einen Antikörpertiter von 1:1 besaß, stammte von einer Fleckviehkuh. Es wurde zwei Tage nach der Geburt des fünften Kalbes gezogen.

Tabelle 6c

BoLA-Antigencluster W 9

C E 3 Z Z
O O E 1
L 3 R

7 0 0 4 4
0 1 0 0 1
0 4 9 8 3

■

GWG 010
GWG 030
GWG 007
GWG 048
GWG 013
GWG 014
GWG 038
GWG 015
GWG 025
GWG 049
GWG 033
GWG 005
GWG 003
GWG 002
GWG 023
GWG 050
GWG 016 + + + + +
GWG 017
GWG 044
GWG 027 + + + + +
GWG 037 + + + + +
GWG 040 + + + + +
GWG 001
GWG 035
GWG 012
GWG 026
GWG 004
GWG 056
GWG 057
GWG 006
GWG 011
GWG 031
GWG 034
GWG 054
GWG 058
GWG 024
GWG 042
GWG 041
GWG 008
GWG 018
GWG 019
GWG 020
GWG 021
GWG 022
GWG 028
GWG 029
GWG 032
GWG 036
GWG 039
GWG 043
GWG 045
GWG 046
GWG 047
GWG 051
GWG 052
GWG 053
GWG 059
GWG 009
GWG 060
GWG 055

Tabelle 6d

BoLA-Antigencluster H

P P Z Z
J J L L
A A

0 0 1 3
2 0 9 3
7 6 7 7

+ + + + +

GWG 010
GWG 030
GWG 007
GWG 048
GWG 013
GWG 014
GWG 038
GWG 015
GWG 025
GWG 049
GWG 033
GWG 005
GWG 003
GWG 002
GWG 023
GWG 050
GWG 016 + + + + +
GWG 017
GWG 044
GWG 027
GWG 037
GWG 040
GWG 001
GWG 035
GWG 012
GWG 026
GWG 004
GWG 056
GWG 057
GWG 006
GWG 011
GWG 031
GWG 034
GWG 054
GWG 058
GWG 024
GWG 042
GWG 041
GWG 008
GWG 018
GWG 019
GWG 020
GWG 021
GWG 022
GWG 028
GWG 029
GWG 032
GWG 036
GWG 039
GWG 043
GWG 045
GWG 046
GWG 047
GWG 051
GWG 052
GWG 053
GWG 059
GWG 009
GWG 060
GWG 055

ALS Zi 337 (H) wurde von einer Holstein Friesian Kuh am Tag nach der Geburt ihres fünften Kalbes gewonnen. Der Antikörpertiter dieses ALS Zi 337 (H) betrug 1:1. Beide Kühe waren auch in den vorhergegangenen Trächtigkeiten von verschiedenen Bullen trächtig gewesen. Merkmalsträger für dieses Antigen H war nur ein Tier der Rasse Pustertaler Sprinzen. In ihrer Spezifität identisch mit diesen ALS waren zwei ALS aus Parkville/Australien.

Dieses Cluster H wurde in der Computeranalyse zuerst als lineare Untergruppe W 9.1 von Cluster W 9 ermittelt, dann jedoch während des BoLA Workshop in Helsinki auf H umbezeichnet, da die Untergruppenbeziehung nicht sichergestellt war. Mit den in unserem Laboratorium gewonnenen ALS Zi 197 und Zi 337 dieser Spezifität konnte der Beweis von linearen Untergruppen auch nicht geführt werden, da mit ALS des Antikörpertiters 1:1 keine Absorptionsuntersuchungen durchgeführt werden können.

Zum Nachweis des Lymphozytenantigens W 10 standen uns die ALS Zi 124, Zi 304 I und Zi 312 zur Verfügung (Tabelle 6e). ALS Zi 124 (W 10) stammte von einer Fleckviehkuh nach der Geburt des sechsten Kalbes und hatte einen Antikörpertiter von 1:1. Die Probe wurde 22 Tage post partum entnommen. ALS Zi 304 I war das Serum einer primiparen Holstein Friesian Kuh. Es wurde am 13. Tag post partum gewonnen. Der Antikörper-

Tabelle 6e

BoLA-Antigencluster W 10

		C	J	O	I	E	E	I	Z	Z	Z
		S	E	S	T	L	D	V	1	1	1
		T	J	N	H	M	S	C			
		7	1	0	2	0	0	0	1	3	3
		7	0	0	4	0	7	0	2	0	1
		3	7	8	1	6	1	5	4	4	2
									I		
GWG	010										
GWG	030										
GWG	007				+						
GWG	048										
GWG	013								+		
GWG	014										
GWG	038										
GWG	015			+							
GWG	025						+				
GWG	049										
GWG	033				+						
GWG	005										
GWG	003										
GWG	002										
GWG	023										
GWG	050										
GWG	016										
GWG	017										
GWG	044										
GWG	027										
GWG	037										
GWG	040										
GWG	001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GWG	035	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GWG	012	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GWG	026										
GWG	004										
GWG	056										
GWG	057				+						
GWG	006										
GWG	011										
GWG	031										
GWG	034										
GWG	054										
GWG	058				+						
GWG	024										
GWG	042										
GWG	041										
GWG	008				+						
GWG	018										
GWG	019										
GWG	020						+				
GWG	021				+						
GWG	022										
GWG	028										
GWG	029										
GWG	032										
GWG	036							+			
GWG	039										
GWG	043				+						
GWG	045										
GWG	046										
GWG	047										
GWG	051							+			
GWG	052										
GWG	053										
GWG	059				+						
GWG	009										
GWG	060				+						
GWG	055				+						

Tabelle 6f

BoLA-Antigencluster W 10.1

		E	O	Z	Z	Z	Z
		L	S	A	1	1	1
		M	T	V			
		0	3	0	0	1	3
		0	8	0	3	7	0
		5	4	2	3	8	5
						II	
GWG	010						
GWG	030						
GWG	007						
GWG	048						
GWG	013						
GWG	014						
GWG	038						
GWG	015						
GWG	025						
GWG	049						
GWG	033						
GWG	005						
GWG	003						
GWG	002						
GWG	023						
GWG	050						
GWG	016						
GWG	017						
GWG	044						
GWG	027						
GWG	037						
GWG	040						
GWG	001						
GWG	035				+		
GWG	012	+	+	+	+	+	+
GWG	026						
GWG	004						
GWG	056				+		
GWG	057						
GWG	006						
GWG	011						
GWG	031						
GWG	034						
GWG	054						
GWG	058						
GWG	024						
GWG	042						
GWG	041						
GWG	008						
GWG	018						
GWG	019						
GWG	020						
GWG	021						
GWG	022						
GWG	028						
GWG	029						
GWG	032						
GWG	036						
GWG	039						
GWG	043						
GWG	045						
GWG	046						
GWG	047						
GWG	051						
GWG	052						
GWG	053						
GWG	059						
GWG	009						
GWG	060						
GWG	055						

titer dieses ALS betrug 1:16. Nach einer Reimmunisierung dieser Kuh durch eine intramuskuläre Injektion von zehn Milliliter Blut ihres Kalbes an diesem Tag wurde zehn Tage später eine weitere Serumprobe gewonnen. Dieses zweite ALS der gleichen Kuh zeigte außer den Reaktionen des ALS Zi 304 I (W 10) noch weitere lymphozytotoxische Reaktionen mit den Lymphozyten sehr vieler Tiere, die keiner Spezifität zugeordnet werden konnten.

ALS Zi 312 (W 10) stammte von einer Holstein Friesian Kuh. Die Probe wurde vier Tage nach der Geburt ihres dritten Kalbes entnommen.

Alle drei Kühe waren von unterschiedlichen Bullen trächtig. Merkmalsträger für das Antigen W 10 waren ein Fleckvieh- und zwei Holstein Friesian Rinder. Identische Reaktionen mit unseren ALS der Spezifität W 10 wiesen sieben ALS aus unterschiedlichen Laboratorien auf.

Der Nachweis des Lymphozytenantigens W 10.1 gelang mit den ALS Zi 33, Zi 178, Zi 305 II und Zi 405 (Tabelle 6f). Dieses Cluster stellt eine lineare Untergruppe zu Antigencluster W 10 dar.

ALS Zi 33 (W 10.1) wurde von einer Fleckviehkuh am Tag der Geburt des vierten Kalbes gewonnen. ALS Zi 178 (W 10.1) stammte von einer Fleckviehkuh nach der sechsten Kalbung. Die Blutprobe wurde acht Tage post partum entnommen.

Bei ALS Zi 305 II (W 10.1) handelte es sich um das Serum einer primiparen Holstein Friesian Kuh. Es erfolgte eine Reimmunisierung der Kuh durch eine intramuskuläre Injektion von zehn Milliliter Blut ihres Kalbes am achten Tag nach dem Abkalben. Nach weiteren zehn Tagen wurde die Serumprobe Zi 305 II gewonnen. In einer Serumprobe, die, vor der Reimmunisierung, am achten Tag nach der Kalbung gezogen wurde, waren keine lymphozytotoxischen Antikörper nachweisbar.

ALS Zi 405 (W 10.1) wurde von einer Braunviehkuh am Tag der Geburt des dritten Kalbes gewonnen.

Alle vier Kühe waren von unterschiedlichen Bullen besamt. Einziger Merkmalsträger für das Antigen W 10.1 war ein Fleckviehrind. Dieses Tier stand zur Titration der ALS nicht mehr zur Verfügung.

Drei ALS gleicher Spezifität aus drei Laboratorien wurden diesem Cluster W 10.1 im III.Internationalen BoLA Vergleichstest zugeordnet.

Das Lymphozytenantigen W 20 konnte durch die ALS Zi 57, Zi 122 Zi 131, Zi 149, Zi 332 I und 332 II definiert werden.

Tabelle 6g zeigt die Reaktionsmuster dieser ALS zusammen mit den Reaktionsmustern von sieben ALS der Spezifität W 20 aus fünf verschiedenen Laboratorien. Außerdem werden die Reaktionsmuster von vier ALS der Spezifität A aus zwei Instituten dargestellt.

Tabelle 6g

BoLA-Antigencluster W 20 und A

		W 20										W20/A										A									
		E E U D P E E Z Z										Z Z Z Z Z										C E E C									
		L L P A W D D 1 1										1 1 1 1 1										O D D O									
		M M S V A S S																				O S S O									
		0 0 0 0 5 1 0 3 3										0 1 1 1										0 1 1 0									
		1 1 2 0 9 2 7 3 3										5 2 3 4										3 0 2 3									
		1 2 6 7 7 1 8 2 2										7 2 1 9										3 7 3 7									
		I II																													
GWG	010												+	+								GWG	010	+	+	+	+				
GWG	030												+	+	+	+						GWG	030	+	+	+	+				
GWG	007												+	+	+	+						GWG	007	+	+	+	+				
GWG	048	+	+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	048	+	+	+	+				
GWG	013												+	+	+	+						GWG	013	+	+	+	+				
GWG	014					+							+	+	+	+						GWG	014	+	+	+	+				
GWG	038												+	+	+	+						GWG	038	+	+	+	+				
GWG	015				+		+															GWG	015		+						
GWG	025																					GWG	025								
GWG	049			+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	049								
GWG	033																					GWG	033								
GWG	005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	005								
GWG	003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	003								
GWG	002																					GWG	002		+						
GWG	023																					GWG	023								
GWG	050			+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	050								
GWG	016												+	+	+	+						GWG	016								
GWG	017												+	+	+	+						GWG	017								
GWG	044																					GWG	044							+	
GWG	027	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	027								
GWG	037		+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	037								
GWG	040												+	+	+	+						GWG	040								
GWG	001																+					GWG	001								
GWG	035																					GWG	035								
GWG	012																					GWG	012								
GWG	026																					GWG	026								
GWG	004						+	+								+						GWG	004								
GWG	056																					GWG	056								
GWG	057				+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	057								
GWG	006	+		+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	006								
GWG	011																					GWG	011								
GWG	031																					GWG	031								
GWG	034																					GWG	034						+		
GWG	054																					GWG	054								
GWG	058																					GWG	058								
GWG	024	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	024								
GWG	042												+	+	+	+						GWG	042								
GWG	041		+										+	+	+	+						GWG	041								
GWG	008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	008								
GWG	018	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	018								
GWG	019		+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	019								
GWG	020		+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	020								
GWG	021			+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	021								
GWG	022		+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	022								
GWG	028		+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	028								
GWG	029			+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	029								
GWG	032			+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	032								
GWG	036			+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	036								
GWG	039	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	039								
GWG	043	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	043								
GWG	045	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	045								
GWG	046	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	046								
GWG	047	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	047								
GWG	051	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	051								
GWG	052	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	052								
GWG	053	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	053								
GWG	059	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+						GWG	059								
GWG	009																+					GWG	009								
GWG	060																					GWG	060								
GWG	055																					GWG	055								

Die Tatsache, daß die ALS Zi 57, Zi 122, Zi 131 und Zi 149 außer den W 20-spezifischen Reaktionen noch mit Lymphozyten von weiteren fünf Tieren reagierten, war ein Hinweis darauf, daß in diesen ALS mindestens eine weitere Antikörperpopulation enthalten ist. Ein Vergleich mit den Reaktionsmustern der ALS der Spezifität A zeigte deutlich, daß diese Antikörperspezifität A in den ALS Zi 57, Zi 122, Zi 131 und Zi 149 ebenfalls enthalten ist.

Die ALS Zi 332 I und Zi 332 II zeigten nicht mit allen Merkmalsträgern für das Antigen W 20 lymphozytotoxische Reaktionen. Ihre Reaktionsmuster waren dem des ALS ELM 011 sehr ähnlich. Die Antikörpertiter der ALS Zi 332 I und Zi 332 II waren sehr niedrig (1:1). Die ALS Zi 332 stammten von einer primiparen Holstein Friesian Kuh. Das ALS Zi 332 I wurde 11 Tage post partum gewonnen, ALS Zi 332 II nach einer am Tag der ersten Entnahme erfolgten Reimmunisierung der Kuh in zuvor beschriebener Weise weitere zehn Tage später.

ALS Zi 57 (W 20,A) wurde von einer Fleckviehkuh 14 Tage nach der Geburt des zweiten Kalbes gezogen und hatte einen Antikörpertiter von 1:16. ALS Zi 122 (W 20,A) stammte von einer Fleckviehkuh nach dem dritten Abkalben und hatte einen Antikörpertiter von 1:4. Die Entnahme erfolgte 23 Tage post partum. ALS Zi 131 (W 20,A) wurde von einer Fleckviehkuh 21 Tage nach der Geburt des zweiten Kalbes gewonnen. Von einer primiparen Fleckviehkuh stammte das ALS Zi 149 (W 20,A). Die Blutprobe wurde 27 Tage post partum gezogen.

Alle Kühe waren von unterschiedlichen Bullen gedeckt. Merkmalsträger für das Antigen W 20 waren Rinder der Rassen Deutsches Fleckvieh, Holstein Friesian und Pustertaler Sprinzen, für das Antigen A nur Fleckviehrinder.

4.3. Antigen-Analyse

Bei der Typisierung der im zweiten Teil der Arbeit eingesetzten Lymphozyten von 60 nicht verwandten Tieren ergaben sich die in Tabelle 7 dargestellten Antigenspezifitäten.

In dieser Tabelle 7 sind Tiere vertreten, bei denen beide Antigen-Haplotypen definiert werden konnten.

Bei einer zweiten Gruppe von Tieren konnte nur ein Antigen-Haplotyp identifiziert werden.

Auffällig waren die im III. Internationalen BoLA Vergleichstest als Simmental bezeichneten Rinder des Deutschen Fleckviehs GWG 55 und GWG 60. Ihre Lymphozytenantigene konnten serologisch noch nicht bestimmt werden.

Besondere Beachtung verdienten auch die drei Fleckviehrinder GWG 27, GWG 37 und GWG 50 sowie die Pustertaler Sprinze GWG 15. Diese Tiere wiesen drei Antigenspezifitäten (Tripletts) auf.

Tabelle 7 Antigen-Analyse

Bezeichnung der Lymphozyten	BoLA Workshop Spezifität	Bezeichnung der Lymphozyten	BoLA- Workshop Spezifität
GWG 001	10 /B	GWG 031	13
GWG 002	6 , 6.3	GWG 032	20
GWG 003	6 ,6.3/20	GWG 033	6,K
GWG 004	11/13	GWG 034	13
GWG 005	6,6.3/20	GWG 035	10/B
GWG 006	13/20	GWG 036	20
GWG 007	1/B	GWG 037	9/20/G
GWG 008	20	GWG 038	A
GWG 009	G	GWG 039	20
GWG 010	A/2	GWG 040	9
GWG 011	13/12	GWG 041	20/F
GWG 012	10/F	GWG 042	20/F
GWG 013	A	GWG 043	20
GWG 014	A	GWG 044	8+,8,8.2
GWG 015	2/13/F	GWG 045	20
GWG 016	8+,8,8.1/9	GWG 046	20
GWG 017	8+,8,8.1/F	GWG 047	20
GWG 018	20	GWG 048	1/20
GWG 019	20	GWG 049	6,K/20
GWG 020	20	GWG 050	6/20/G
GWG 021	20	GWG 051	20
GWG 022	20	GWG 052	20
GWG 023	6,6.3	GWG 053	20
GWG 024	20/B	GWG 054	13
GWG 025	5/8+,8	GWG 055	-
GWG 026	11/B	GWG 056	11
GWG 027	9/20/G	GWG 057	20/B
GWG 028	20	GWG 058	16,16+/20
GWG 029	20	GWG 059	20
GWG 030	A/8+,8,8.2	GWG 060	-

4.4. Fraktionierung der Antilymphozytenserum durch Absorption

Die ALS GWG 412 und GWG 415, die dem Cluster W 6 zugeordnet worden waren, wurden einer zusätzlichen Absorptionsuntersuchung unterzogen. Beide ALS wurden jeweils einzeln mit den Lymphozyten der Tiere GWG 3, GWG 5, GWG 23 und GWG 33 absorbiert.

In Tabelle 8 sind die Reaktionsmuster der den Clustern W 6, K und W 6.3 zugeordneten ALS dargestellt.

Sowohl die Reaktionen der beiden ALS GWG 412 und GWG 415 als auch die der absorbierten Seren mit den Lymphozyten der Tiere GWG 3, GWG 5, GWG 23 und GWG 33 im lymphozytotoxischen Test zeigt die Tabelle 9. Die Tiere GWG 2, GWG 49 und GWG 50 standen uns leider zu diesem Zeitpunkt nicht mehr zur Verfügung.

Tabelle 8 BoLA-Antigencluster W 6, K und W 6.3

	W 6																K		W 6.3		
	H	C	I	C	B	U	E	G	M	U	C	U	N	O	G	U	N	E	C	E	I
	W	O	V	S	E	P	D	W	I	P	O	P	A	S	W	P	A	D	O	L	T
	G	D	C	T	R	S	S	G	L	S	D	S	K	N	G	S	K	S	L	M	H
	0	0	0	1	0	0	0	4	5	0	0	0	0	0	4	0	0	0	8	0	3
	0	3	0	4	0	1	6	1	5	0	1	2	3	0	1	9	1	9	1	0	1
	2	8	3	6	4	7	6	2	3	7	1	1	8	6	5	8	0	3	5	8	2
GWG 049	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
GWG 033	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
GWG 005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	
GWG 003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	
GWG 002	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	
GWG 023	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	
GWG 050	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					

Tabelle 9 Reaktionsmuster der ALS GWG 412 und GWG 415
sowie der absorbierten Seren (Zi)

	G W G	Z 1	Z i	Z i	Z 1	G W G	Z i	Z i	Z i	Z 1	Bezeich- nung der Seren
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	2	2	2	2	2	5	5	5	5	5	
		1	2	3	4		1	2	3	4	
Tier	-	3	5	23	33	-	3	5	23	33	absorbiert mit Tier
GWG 33	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	
GWG 5	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
GWG 3	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
GWG 23	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	

Durch die Absorption des ALS GWG 412 mit Lymphozyten der Tiere GWG 3, GWG 5 und GWG 23 konnte ein ALS hergestellt werden, das in seinem Reaktionsmuster den ALS mit der Antikörperspezifität K im III.Internationalen BoLA Vergleichstest entsprach. (Tabellen 8 und 9)

Durch Absorption des ALS GWG 412 mit Lymphozyten des Tieres GWG 33 konnte die zytotoxische Aktivität gegen die Lymphozyten aller vier Tiere aus dem ALS GWG 412 entfernt werden, also die Spezifität K und die durch die Lymphozyten der Tiere GWG 3, GWG 5 und GWG 23 definierte Antikörperspezifität W 6.

Im ALS GWG 415 konnten durch Absorption mit Lymphozyten der Tiere GWG 3, GWG 5, GWG 23 und GWG 33 diese Aufspaltung der Antikörperspezifitäten nicht erfolgen. Durch Absorption des ALS GWG 415 mit den Lymphozyten von jedem dieser vier Tiere wurde übereinstimmend die zytotoxische Aktivität gegen alle vier Merkmalsträger aus dem ALS entfernt.

Weitere Ergebnisse zur Klärung der Antikörperspezifitäten in den ALS GWG 412 und GWG 415 erbrachte ein näheres Studium der erythrozytären und lymphozytären Antigenstrukturen des Tieres GWG 33.

Das Tier GWG 33 stand uns im Bestand des Lehr- und Versuchsgutes der Universität München in Oberschleißheim zur Verfügung. Dort waren durch Mikromanipulationen die Embryonen von zwei unterschiedlichen Elternpaaren aggregiert und einer Empfängerkuh implantiert worden. Als Elternpaare des Tieres GWG 33 kamen die Kuh 170 und der Bulle Tassan auf der einen Seite, die Kuh 828 und der Bulle Valer auf der anderen Seite in Betracht. Um zu prüfen, ob es sich bei diesem Tier GWG 33 um einen Chimären handelt, wurden die Antigenspezifitäten der beiden in Frage kommenden Elternpaare und des Tieres GWG 33 bestimmt.

Die blutgruppenserologische Abstammungsprüfung brachte folgendes Ergebnis (Tabelle 10).

Tabelle 10 Erythrozytäre und lymphozytäre Antigenspezifitäten des Tieres GWG 33 und der in Betracht kommenden Elternpaare

Nachkomme GWG 33

Erythrozytäres System

$A_1H/-$ $G_1OxA'/E'_3G'O'G''I''$ R_2WL' F/F $SH'S''/H'UH''$ Z R'/S'

Lymphozytäres System

W 6, K/MÜ 24

Bulle Tassan

Erythrozytäres System

BG_2O_1/G_1OxA' C_1ER_2L'/W F/F $L/-$ $SH'S''/-$ $Z/-$ R'/S'

Lymphozytäres System

W 20/MÜ 24

Kuh 170

Erythrozytäres System

A_1H $Ox Q/E'_3G'O'G''I''$ R_2WL' F/F $SH'S''/H'UH''$ Z S'/S'

Lymphozytäres System

W 6, K/W 2

Bulle Valer

Erythrozytäres System

$H/-$ E'_3G''/Q' E/X_1 V/V L $-/-$ $-/-$ S'/S'

Lymphozytäres System

W 10/ W 8

Kuh 828

Erythrozytäres System

$BO_1B'/BO_1Y_2D'I''$ C_1EWX_2 F/V J_1 H' Z S'/S'

Lymphozytäres System

W 6+/ A

Aus den Reaktionen im lymphozytotoxischen Test zeigte sich deutlich, daß der Bulle Valer und die Kuh 828 als Elterntiere ausgeschlossen werden konnten und damit kein Anhaltspunkt gegen die Elternschaft des Bullen Tassan und der Kuh 170 besteht. Die Untersuchungen der erythrozytären Blutgruppenfaktoren, die am Institut für Blutgruppenforschung in Grub durchgeführt wurden, führte ebenfalls zum Ausschluß eines Chimärismus und zum Ausschluß des Bullen Valer und der Kuh 828 von der Elternschaft.

Nach der Definition der linearen Beziehung serologischer Untergruppen (STORMONT 1950) ergibt sich in Bezug auf die Antigenpezifitäten W 6 und K Folgendes:

Alle K-Merkmalsträger (GWG 33) reagierten sowohl mit ALS Anti-K als auch mit ALS Anti-W 6.

Alle W 6-Merkmalsträger (GWG 3, GWG 5, GWG 23) reagierten nur mit ALS Anti-W 6.

	ALS Anti K	ALS Anti W 6
Lymphozyten- antigen K	+	+
Lymphozyten- antigen W 6	-	+

In ALS GWG 412 ließen sich die Antikörperpopulationen Anti-K und Anti-W 6 differenzieren. In ALS Zi 4121, Zi 4122 und Zi 4123 (Tabelle 9) war nach Absorption nur die Antikörperpopulation Anti-K nachweisbar.

Damit konnten die linearen Untergruppen W 6 und K definiert werden.

In ALS GWG 415 war diese Aufspaltung durch Absorption nicht möglich.

Durch unsere Untersuchungen konnte bewiesen werden, daß die Lymphozytenantigene W 6 und K in linearer Untergruppenbeziehung zueinander stehen.

Durch diese Absorptionen konnte eine Unterscheidung zwischen den ALS GWG 412 und den ALS GWG 415 erfolgen, die im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest nicht möglich war, da keine genetische Information der Untergruppe K zur Verfügung stand.

Durch Absorption der ALS GWG 24, Zi 115 und Zi 407 (Tabelle 6a) mit den Tieren GWG 23, GWG 33, GWG 29 und GWG 9 konnte in jedem Fall die zytotoxische Aktivität gegen alle Merkmalsträger aus den ALS entfernt werden.

Obwohl die ALS Zi 115 und Zi 407 mit den Lymphozyten der Tiere GWG 29 und GWG 9 nicht reagierten, konnte auch mit diesen Lymphozyten die zytotoxische Aktivität gegenüber allen vier Merkmalsträgern aus den ALS entfernt werden. Dies wies darauf hin, daß es sich bei den Tieren GWG 29 und GWG 9 um sehr schwache Merkmalsträger handelte.

Die Ergebnisse der Absorption zeigten, daß es sich bei den ALS GWG 24, Zi 115 und Zi 407 um monovalente ALS gleicher Spezifität handelt.

Durch diese ALS konnte das Lymphozytenantigen MÜ 24 definiert werden.

Das ALS GWG 129 hatte im Test gegen die Merkmalsträger für das Antigen MÜ 24 einen Antikörpertiter von 1:4 (Tabelle 5). Nach der Absorption des ALS GWG 129 mit den Lymphozyten der Tiere GWG 13 und GWG 14 (Merkmalsträger A) reagierten die absorbierten ALS Zi 129/13 und Zi 129/14 nur noch mit Lymphozyten der Spezifität MÜ 24. Der Antikörpertiter betrug 1:2.

Nach Absorption des ALS GWG 129 mit Lymphozyten von Tieren, die Merkmalsträger für das Antigen MÜ 24 (GWG 23, GWG 29, GWG 33) waren, zeigte das absorbierte ALS keine zytotoxischen Reaktionen mehr. Dies liegt im niedrigen Antikörpertiter des ALS GWG 129 im Test gegen Lymphozyten der Spezifität A (1:2) begründet. Mit derartig schwachtitrigen Seren sind keine Absorptionsanalysen möglich.

Die ALS Zi 57, Zi 122 und Zi 149 (Tabelle 6g) hatten einen Antikörpertiter von 1:16, 1:4 und 1:1 im Test mit Lymphozyten der Spezifität A. Der Antikörpertiter dieser ALS gegenüber Lymphozyten der Spezifität W 20 lag bei 1:8 (ALS Zi 57),

1:2 (ALS Zi 122) und 1:1 (ALS Zi 149).

Nach Absorption der ALS Zi 57 und Zi 122 mit Lymphozyten der Spezifität A (GWG 13, GWG 14, GWG 30, GWG 38) zeigten die absorbierten Seren nur noch Reaktionen gegen die Lymphozyten, die Merkmalsträger für das Antigen W 20 waren.

Die mit A-Merkmalsträgern absorbierten ALS Zi 57 und Zi 122 hatten im Test gegen W 20 - Merkmalsträger einen Antikörpertiter von 1:8 beziehungsweise 1:1.

ALS Zi 149 zeigte nach der Absorption mit Lymphozyten der Spezifität A keine zytotoxischen Reaktionen mehr. Dies ist wiederum mit dem niedrigen Antikörpertiter (1:1) des ALS Zi 149 zu erklären.

Nach Absorption der ALS Zi 57, Zi 122 und Zi 149 mit Lymphozyten der Tiere GWG 45 und GWG 52, denen im III.Internationalen BoLA-Vergleichstest die Spezifität W 20 zugeschrieben wurden (Tabelle 7), zeigten die absorbierten Seren überraschenderweise keine Reaktionen gegenüber den A-Merkmalsträgern GWG 13, GWG 14, GWG 30 und GWG 38.

Dies läßt sich nur dadurch erklären, daß die Tiere GWG 45 und GWG 52 nicht nur Merkmalsträger für das Lymphozytenantigen W 20, sondern auch Merkmalsträger für das Lymphozytenantigen A bzw.einer noch unbekannten A-Untergruppe waren,wobei es sich bei dem Lymphozytenantigen A um ein schwaches Merkmal handeln muß, das nur in der Absorptionsanalyse erfaßbar war.

4.5. Lymphozytotoxische Antikörper und ihre
klinische Bedeutung

Zusammenhänge zwischen dem Nachweis lymphozytotoxischer Antikörper im Serum der Muttertiere und immunologisch bedingten Erkrankungen und Aufzuchtstörungen in den ersten Lebenswochen ihrer Kälber wurden von uns nicht beobachtet.

5. Besprechung der Ergebnisse

ALS zum Nachweis von Lymphozytenantigenen können auf drei verschiedenen Wegen gewonnen werden.

- Immunisierung mit Lymphozyten
- Hauttransplantation
- Sensibilisierung des Muttertieres durch foetale Lymphozytenantigene aus dem väterlichen Erbgut im Verlauf der Trächtigkeit

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß gegen Lymphozyten gerichtete Antikörper aus dem Blutserum von primiparen und multiparen Rindern gewonnen werden können.

Beim gesunden Rind erfolgt die Übertragung dieser Antikörper vom Muttertier auf das Kalb nur über die Kolostralmilch. Es kommt gegen Ende der Trächtigkeit zur Anreicherung von Antikörpern aus dem Blutplasma in der Milchdrüse (MITSCHERLICH 1977).

Beim neugeborenen Ferkel, Fohlen und anderen Säugern besteht eine zeitlich begrenzte Durchlässigkeit der Darmwand für Antikörper. Beim gesunden Neugeborenen kann es dadurch nach der Aufnahme von Kolostralmilch zum Übertritt von lymphozytotoxischen Antikörpern aus dem Darmlumen in die Blutbahn kommen.

Wenn die Lymphozyten des Neugeborenen an ihrer Oberfläche

Antigene tragen, die mit den Antikörpern aus dem Kolostrum reagieren, müßte dies in jedem Fall zu einer Leukopenie führen. Das wäre dann der Fall, wenn das Muttertier durch Lymphozytenantigene des Foetus aus dem väterliche Erbgut immunisiert wurde und die daraufhin gebildeten lymphozytotoxischen Antikörper über das Kolostrum dem Neugeborenen in den ersten Lebensstunden zugeführt werden.

Beim Pferd kann dies zur Leukopenia neonatorum führen (LEIDL et al. 1980).

Beim Schwein kam es zu keinem Nachteil für die Aufzucht und Abwehr der Ferkel, obwohl in hohem Maße lymphozytotoxische Antikörper nachweisbar waren. SCHMID et al. (1978b) diskutieren einen zu geringen Antikörpertiter in der Kolostralmilch und eine Bindung und Eliminierung der Antikörper durch zelluläre Gruppenantigene der Leukozyten, Thrombozyten und anderer Gewebszellen sowie durch lösliche Lymphozytenantigene als Ursache für die ausbleibende Lymphozytopenie.

Die Tatsache, daß beim Rind keine Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von lymphozytotoxischen Serumantikörpern und einer Beeinträchtigung von Gesundheit und Aufzucht der Kälber zu beobachten waren, spricht dafür, daß ähnliche Schutzmechanismen wirksam sind, wie beim Schwein.

GRZYBOWSKI und ZURKOWSKI (1985) beobachteten bei einer Polnischen Schwarzbunten-Kuh nach mehrfacher Trächtigkeit und Transplantation der Haut eines ihrer Kälber einen ungewöhnlich hohen Titer (> 1:10000) gegen das Lymphozytenantigen

W 16. Eines ihrer Kälber starb acht Tage nach der Geburt an Pneumonie. Es besteht in diesem Fall der dringende Verdacht, daß der außergewöhnlich hohe Antikörpertiter bei einer gleichzeitig starken Ausbildung des korrespondierenden Antigens W 16 an den Lymphozyten des Kalbes den physiologischen Schutzmechanismus durchbrochen hat und die Folge einer Antigen-Antikörper Reaktion dann zum Tod des Kalbes geführt hat.

Nach mehrfacher Trächtigkeit kommt es in einem höheren Prozentsatz zur Bildung lymphozytotoxischer Antikörper als nach nur einmaliger Trächtigkeit. Dies erklärt sich durch eine sich wiederholende Sensibilisierung des Muttertiers durch identische oder kreuzreaktive foetale Antigene aus dem väterlichen Erbgut während jeder erneuten Trächtigkeit. In diesen Reimmunisierungen finden auch die steigenden Antikörpertiter nach mehrfacher Trächtigkeit ihre Erklärung.

Nur in einem von 15 Fällen (6,7%) konnten im Serum eines primiparen Rindes zehn Tage ante partum lymphozytotoxische Antikörper mit einem Antikörpertiter von 1:1 nachgewiesen werden.

Im Gegensatz dazu waren bei primiparen Rindern post partum lymphozytotoxische Antikörper in einem Prozentsatz von 22,6% im Serum vertreten.

Dies läßt den Schluß zu, daß eine Immunisierung während des Geburtsvorganges und der Puerperalphase für die Bildung lym-

phozytotoxischer Antikörper von herausragender Bedeutung ist. Die Beobachtung, daß ein Ansteigen in der Häufigkeit des Vorkommens von lymphozytotoxischen Antikörpern im Serum von Rindern mit relativ schwachen Titern im Zeitraum von drei bis vier Wochen post partum eintrat, spricht dafür, daß es während des Geburtsvorganges und in der Puerperalphase zu einer erstmaligen Sensibilisierung durch die Einschwemmung größerer Blutmengen in den mütterlichen Kreislauf gekommen sein mußte. In diesen Fällen war während der Trächtigkeit offensichtlich keine Sensibilisierung erfolgt, obwohl eine Inkompatibilität zwischen Muttertier und Foetus vorlag. Dies kann in einem zur Sensibilisierung nicht ausreichendem antigenen Reiz durch den Foetus oder in einer Immunsuppression des Muttertieres begründet sein.

Um die Wirkung einer Reimmunisierung von durch väterliche Antigene im Foetus vorsensibilisierten Rindern zu studieren, wurden diese Rinder mit Lymphozyten ihrer Kälber immunisiert.

In zwei Fällen kam es zu einer Verbreiterung des Reaktionsspektrums, im dritten Fall blieb die Reimmunisierung ohne Erfolg. Bei diesem Tier waren das Antikörperspektrum und die Antikörpertiter vor und nach der Immunisierung unverändert. Die Verbreiterung der Reaktionsmuster ist darauf zurückzuführen, daß es während der Reimmunisierung zu einer Bildung von Antikörpern gegenüber weiteren Lymphozytenantigenen, die während der Erstimmunisierung keine Immunantwort hervorgeru-

fen hatten, gekommen war.

In zwei Fällen wurden bei primiparen Rindern lymphozyto-toxische Antikörper im Serum gefunden, die nachweislich nicht mit den Lymphozyten der zur Besamung verwendeten Bullen reagi-erten. In diesen beiden Fällen läßt sich nicht mit hinrei-chender Sicherheit ausschließen, daß es sich hierbei um na-türliche Antikörper handelt.

Von 284 Rinderseren, die in dieser Arbeit berücksichtigt wur-den, zeigten 96 Rinderseren lymphozytotoxische Antikörper. Eine weitere Selektion dieser ALS mit dem Ziel der Gewinnung von Testseren zum Nachweis von einzelnen Lymphozytenantigenen erfolgte durch Auswahl der Seren, die höchstens mit 80% der im Test eingesetzten Rinderlymphozyten reagierten. Diese 90 ALS wurden in ihren Antikörperspektren ver-glichen. Auf diesem Weg wurden in diesen ALS folgende Anti-körperspezifitäten definiert:

A; W 2, W 6, K, W 8, W 9, H, W 10, W 10.1, W 20, Mü 24

Dies war mit Hilfe des III.Internationalen BoLA-Vergleichs-testes möglich.

Bei den Workshop-Bezeichnungen (W und A - K) handelt es sich um eine international anerkannte Spezifitätenbezeichnung, die jedoch noch keinen endgültigen Charakter hat.

Die Seren dienen aber jetzt schon dem verbindlichen Nachweis bestimmter Lymphozytenantigene.

Die Frage, ob es sich bei diesen ALS um momovalente Testseren handelt, kann im Augenblick nicht mit absoluter Sicherheit beantwortet werden. Es bedarf noch eingehender internationaler Vergleichsuntersuchungen an weiteren Rindern unter Berücksichtigung von Absorptionsergebnissen und serogenetischen Analysen an Rinderfamilien. Es empfiehlt sich daher, die vorliegenden Testseren zunächst weiterhin als "operationally" monovalent zu bezeichnen (WALFORD und TROUP 1967; WALFORD et al. 1967; KLOUDA et al. 1968).

Eine Fraktionierung von bivalenten ALS erfolgte durch gezielte Absorption. Aus unbekannten ALS konnten wertvolle "operationally" monovalente Testseren hergestellt werden.

Am Beispiel der ALS GWG 24 und GWG 129 konnte ein bisher unbekanntes Lymphozytenantigen definiert werden. Wir bezeichneten dieses Lymphozytenantigen als Mü 24.

Dieses Lymphozytenantigen Mü 24 konnte durch zwei weitere, nicht absorbierte ALS (Zi 115, Zi 407) von verschiedenen Rindern unterschiedlicher Rassen definiert werden. Neben den Ergebnissen der Monovalenzprüfung durch multiple Absorptionen stellt dies einen weiteren überzeugenden Beweis für das Vorkommen dieses von uns beschriebenen, bisher unbekannten Lymphozytenantigens Mü 24 dar.

Den Merkmalsträgern für Mü 24 konnte im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest zunächst nur ein Haplotyp zugeordnet werden. Der zweite Haplotyp ist nun durch Mü 24 markiert.

Tier PWA 26 reagierte sowohl mit ALS der Spezifität Mü 24,

als auch mit polyvalenten ALS, denen neben anderen auch die Spezifität W 4 zugeordnet werden konnte.

Tier GWG 33 reagierte mit den die Untergruppenbeziehung W 6 - K definierenden ALS. Diese Untergruppenbeziehung wurde in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen.

Merkmalsträger für MÜ 24 waren Tiere der Rassen Deutsches Fleckvieh und Simmental. Wenn man davon ausgeht, daß in ALS GWG 129 neben einer zweiten Antikörperpopulation die Antikörperpopulation der Spezifität MÜ 24 enthalten ist, müßten alle MÜ 24-Merkmalsträger mit beiden ALS, GWG 24 und GWG 129, reagieren. Das ist jedoch nicht der Fall. Da im III. Internationalen Vergleichstest 15 Tiere aus sieben Rassen nur mit ALS GWG 24 reagierten, kann für den Fall, daß unspezifische Reaktionen ausgeschlossen werden können, davon ausgegangen werden, daß bei MÜ 24 lineare Untergruppen differenziert werden können.

Unter der Annahme, daß es sich bei einer zweiten im ALS GWG 129 nachgewiesenen Antikörperpopulation um Anti-A handelt, müßte ALS GWG 129 mit allen A-Merkmalsträgern im III. Internationalen Vergleichstest reagieren. Dies traf jedoch nicht zu und führte zu der Hypothese, daß durch die Simmental-Rinder COL 735 bis BER 020 (Tabelle 3) eine A-Untergruppe markiert wurde, die sowohl bei Simmental-Rindern als auch bei Tieren der Rassen Jersey, Dänisches Rotvieh, San Martin und Tschechoslowakische Rotbunte auftrat.

Ein Beweis für die beiden bisher genannten Untergruppenbe-

ziehungen steht noch aus, da uns die Merkmalsträger für beide Untergruppen zu Absorptionsanalysen nicht zur Verfügung standen.

Über das Vorkommen von linearen Untergruppen im BoLA-System am Beispiel des Clusters W 8 wurde bereits früher aus unserem Institut berichtet (CAMPOS COSTA 1980). Das Vorkommen einer derartigen Untergruppenbeziehung im Cluster W 8 wurde im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest bestätigt.

Eindeutig nachgewiesen und bewiesen werden konnte eine Untergruppenbeziehung zwischen den Lymphozytenantigenen W 6 und K. SPOONER et al. (1980, 1981) hatten bereits früher über Untergruppenbeziehungen im W 6-Komplex berichtet.

Durch Absorption des im III. Internationalen Vergleichstest dem Cluster W 6 zugeordneten ALS GWG 412 gelang es, ein ALS herzustellen, das identische Reaktionsmuster mit den Seren EDS 093 und NAK 010 zeigte, die auf dem BoLA-Workshop in Helsinki im Juli 1986 als anti-K bezeichnet wurden.

Durch Absorptionsanalysen unserer beiden ALS GWG 412 und GWG 415 konnten wir eine lineare Untergruppenbeziehung zwischen dem Lymphozytenantigen W 6 und dem Lymphozytenantigen K beweisen.

Die Lymphozyten von vier Rindern aus den Tierbeständen des Lehr- und Versuchsgutes in Oberschleißheim und der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub reagierten mit ALS, die mehr als zwei Haplotypen markierten.

Unter weiterer Beibehaltung der beim BoLA-Workshop in Helsinki im Juli 1986 mehrheitlich vertretenen Annahme, daß die Lymphozytenantigene des Rindes unter der genetischen Kontrolle nur eines locus stehen und daß es sich bei den hier erfaßten Antigenen nur um Klasse I - Antigene handelt, wäre dies formalgenetisch nicht zu erwarten.

Zur Erklärung bieten sich folgende Möglichkeiten an:

- 1) Das Vorliegen eines Blutkörperchenmosaiks bei Mehrlingsträchtigkeit. Dies ist für erythrozytäre Blutgruppenantigene bewiesen (SCHMID und BUSCHMANN 1985).
Ein XX/XY - Chimärismus wurde von GRZYBOWSKI und ZURKOWSKI (1985) bei den Lymphozyten eines Zwillingskalbes nachgewiesen.
- 2) Das Vorliegen einer Untergruppenbeziehung zwischen zwei dieser drei Lymphozytenantigene.
- 3) Kreuzreaktive Beziehungen zwischen zwei dieser drei Lymphozytenantigene.

Bei zwei Rindern aus dem Bestand der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub konnten unter Einsatz von 365 ALS aus 21 Laboratorien keine Lymphozytenantigene nachgewiesen werden.

Dies weist darauf hin, daß die Erforschung der Lymphozytenantigene beim Rind noch nicht abgeschlossen ist und weitere wissenschaftliche Anstrengungen erforderlich sind, um die Lymphozytenantigene und ihre Untergruppen bei unseren Rinderrassen vollständig und endgültig zu definieren.

6. Zusammenfassung

Lymphozytotoxische Seren primiparer und multiparer Rinder wurden zum Nachweis von Lymphozytenantigenen des BoLA-Systems eingesetzt.

282 Seren wurden im Mikrolymphozytotoxizitätstest auf ihre Spezifität gegenüber Lymphozytenantigenen geprüft.

In 33,8% der untersuchten Seren konnten lymphozytotoxische Antikörper nachgewiesen werden. Bei den Primiparen lag dieser Prozentsatz bei 22,6%, bei den Multiparen bei 39,2%. Die Antikörpertiter bewegten sich bei den primiparen Rindern im Bereich von 1:1 bis 1:16, bei den multiparen Tieren zwischen 1:1 und 1:256.

Der höchste Prozentsatz an Rindern mit lymphozytotoxischen Serumantikörpern wurde in der ersten (39,2%) und der vierten (46,1%) Woche post partum beobachtet.

Es besteht die Möglichkeit, Antilymphozytenseren zu gewinnen, die aufgrund einer physiologischen Sensibilisierung während der Trächtigkeit und bei der Geburt entstanden waren. Der Wert dieser Seren liegt nicht zuletzt darin, daß sich bei der Gewinnung von Testseren Hauttransplantationen oder andere aufwendige Immunisierungsverfahren erübrigen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden lymphozytotoxische Antikörper folgender Spezifitäten nachgewiesen:

A, W 2, W 6, K, W 8, W 9, H, W 10, W 10.1, W 20

Durch Absorption mit Lymphozyten von Rindern gelang es, aus zunächst zum Teil polyvalenten beziehungsweise bivalenten ALS monovalente beziehungsweise "operationally" monovalente Testseren herzustellen.

Mit vier ALS von nicht verwandten Rindern wurde ein bisher nicht bekanntes Antigen definiert, das vorläufig als M $\ddot{u}$ 24 bezeichnet wurde. Der korrespondierende Antikörper Anti-M $\ddot{u}$ 24 wurde durch gezielte Absorptionen bestätigt.

Lineare Untergruppen wurden im BoLA-W 6 nachgewiesen. Durch Absorptionen und Familienuntersuchungen wurden die linearen Untergruppen W 6 und K definiert.

Das Vorkommen von linearen Untergruppen weist auf die Möglichkeit einer weiteren Differenzierung innerhalb des BoLA-Systems hin. Damit können bisher unbekannte serogenetische Marker definiert werden, die für die Erforschung von Zusammenhängen zwischen bestimmten Krankheiten und Histokompatibilitätsantigenen bedeutsam sein können.

7. Summary

Lymphocytotoxic sera from primiparous and multiparous cows were used to define lymphocyte-antigens of the BoLA-system.

282 sera were examined for their specificity to lymphocyte-antigens in the microcytotoxic-test.

Lymphocyte antibodies were found in 33,8% of the tested sera. 22,6% of sera from primiparous cows and 39,2% of sera from multiparous cows had cytotoxic antibodies. The antibody-titres ranged from 1:1 to 1:16 in primiparous cows and 1:1 to 1:256 in multiparous cows.

Lymphocytotoxic antibodies were most frequently found in sera from cows in the first (39,2%) and fourth (46,1%) week after parturition.

Anti lymphocyte sera can be obtained from cows following physiological sensitization during pregnancy and parturition. Such sera are of great value as test reagents.

Other immunization procedures, like skin grafting, to produce test reagents are superfluous.

Lymphocytotoxic antibodies of following specificities were defined:

A, W 2, W 6, K, W 8, W 9, H, W 10, W 10.1, W 20

Polyvalent or bivalent antilymphocyte bovine sera were rendered monovalent or "operationally" monovalent by absorption with lymphocytes of known BoLA-specificities.

One so far unknown bovine lymphocyte antigen has been defined with four sera from unrelated animals. This antigen has been provisionally designated as Mü 24. The existence of anti-Mü 24 has been proved by absorptions.

The existence of a linear subgroup within BoLA-W 6 could be proved through absorptions, and was demonstrated in family studies. This subgroup of W 6 has a provisional designation K.

The existence of linear subgroups shows possibilities of further differentiation within the BoLA-system.

Thus additional serogenetic markers are available within the BoLA-system. Such markers can be important in future research on associations between histocompatibility-antigens and diseases.

8.Literaturverzeichnis

Albert, E.D. (1973)

Die genetischen Systeme der menschlichen Histokompatibilität: Das HLA-System.

Blut 27, 73 - 80

Amorena, B. and Stone, W.H. (1978)

Serologically defined (SD) locus in cattle.

Science 201, 159 - 160

Amorena, B. and Stone, W.H. (1982)

Sources of bovine lymphocyte antigen (BoLA) typing reagents.

Anim. Blood Grps and Biochem. Genet. 13, 81 - 90

Amos, D.B. (1966)

Cytotoxicity test.

Histocompatibility Testing, 151 - 159

Munksgaard, Copenhagen.

Amos, D.B., Bashir, H., Boyle, W., MacQueen M., Tiilikainen A. (1969)

A simple microcytotoxicity test.

Transplantation 7, 220 - 223

Anderson, J.M. (1970)

The transplantation immunology of certain mammalian mothers and progeny.

Proc. Roy. Soc. B 176, 115

Andersson, L., Böhme J., Rask, L., Peterson, P.A. (1986a)

Genomic hybridization of bovine class II major histocompatibility genes: 1. Extensive polymorphism of DQ α and DQ β -genes.

Animal Genetics 17, 95- 112

Andersson, L., Lindberg, P.G., Sigurdardottir, S. (1986b)

Extensive restriction fragment length polymorphism of bovine class I genes.

Proc.XXth international conference on animal blood grps biochem.polymorphism,Helsinki 28.7-1.8.1986 , 11

Andersson, L., Rask, L., Peterson, P.A. (1986c)

Do DQ genes vary in number in different bovine MHC-haplotypes

Proc.XXth international conference on animal blood grps biochem.polymorphism,Helsinki 28.7-1.8.1986 , 12

Antczak, D.F. (1980)

Equine leukocyte antigens: Serological and genetic studies

Proc.XVIIth international conference on animal blood grps biochem.polymorphism,Wageningen,29.7-1.8.1980, 16

Aoki, T., Boyse, E.A., Old, L.D. (1966)

Occurence of natural antibody to the G(Gross) leukemia antigen in mice.

Cancer Res.26, 1415- 1419

Bailey, E. (1980)

Studies on lymphocyte alloantigens in the blood of horses.

Proc.XVIIth international conference on animal blood grps biochem.polymorphism,Wageningen,29.7-1.8.1980, 14

Beer, A.E., Semprini, A.E., Xiaoyu, Z., Quebbeman, J.F. (1985)

Pregnancy outcome in human couples with reccurent spontaneous abortions:HLA antigen profiles;HLA antigen sharing;female serum MLR blocking factors;and paternal leucocyte immunization.

Exp.clin.Immunogenet.2, 137 - 153

- Bernoco, D., Lewin, H.A., Howland, J. (1984)
Role of the bovine MHC in infection and transformation by bovine leukemia virus.
Proc. XIX.th international conference on animal blood grps.biochem.polymorphism, Göttingen 22.-27.1.1984, 53
- Bertrams, J., Kuwert, E. (1970)
Leukozyten-Isoantikörper
Münch.Med. Wschr. 30, 1386 - 1391
- Bøyum, A. (1964)
Separation of white blood cells.
Nature 21, 793 - 794
- Bøyum, A. (1974)
Separation of blood leucocytes, granulocytes and lymphocytes.
Tissue Antigens 4, 269 - 274
- Borovska, M., Démant, P. (1967)
Specificity of cytotoxic antibodies in typing sera against cattle blood group antigens.
Folia Biol.(Praha) 13, 473 - 475
- Brandt, L., Börjeson, J., Nordén, A., Olsson, I. (1962)
Separation of lymphocytes from peripheral blood by means of a glass wool column
A method for in vitro culture of lymphocytes.
Acta Med.Scand.172, 459 - 462
- Braun, W.E., Grecek, D.R., Murphy, J.J. (1972)
Expanded HLA-phenotypes of human peripheral lymphocytes after trypsinization.
Transplantation 13, 337 - 339

- Bright, S., Antczak, D.F., Ricketts, S. (1978)
Studies on equine leucocyte antigens. Equine infectious diseases IV.
Proc. 4th. Intern. Conf. Equine infectious Diseases
(Lyon 24-27.9.1976) Ed. Bryans, J.T., Gerber, H.
Veterinary Publications, Princeton USA
- Brodsky, F.M., Parham, P. (1982)
Evolution of HLA antigenic determinants: Species cross-reactions of monoclonal antibodies.
Immunogenetics 15, 151 - 166
- Brodsky, F.M., Stone, W.H., Parham, P. (1981)
Of cows and men: A comparative study of histocompatibility antigens.
Human Immunology 3, 143 - 152
- Byrns, G. (1985)
An approved BoLA typing procedure.
BoLA News Letter No.1 July 1985, 10-16
- Caldwell, J., Bryan, C., Cumberland, P.A., Weseli, D.F. (1977)
Serologically detected lymphocyte antigens in Holstein cattle.
Anim. Blood Grps. biochem. Genet. 8, 197 - 207
- Caldwell, J., Cumberland, P.A., Weseli, D.F., Williams, J.D. (1979)
Breed differences in frequency of BoLA specificities
Anim. Blood Grps biochem. Genet. 10, 93 - 98
- Cambon-Thomsen, A., Sommer, E., Demur, C., Calot, M., Ohayon, E. (1985)
Platelet absorption on the test tray (PATT): A rapid method for the screening of HLA class II antibodies using the two-colour fluorescence method.
Tissue Antigens 26, 193 - 200

Campos-Costa, Y. J. (1980)

Zur Serologie des BoLA-Systems beim Rind.

Inaug.-Diss. Vet. Med., LMU München 1980.

Carbonara, A., Trinchieri, G., Massobrio, M., Pilone, N. (1974)

Antibodies in parous women detected by antibody dependent cell-mediated cytotoxicity

Tissue Antigens 4, 558- 563

Cerný-Provazník, R., Kloostermann, T., Verkerk, D., Vroom, T.,
Ivanýi, P. (1986)

Natural autoreactive H-2 specific serum antibodies in a group of Balb/cBy(H-2^d) mice.

Tissue Antigens 27, 106- 111

Cerný-Provazník, R., Mourik, P. van, Limpens, J., Leupers, T.,
Ivanýi, P. (1985)

Anti MHC immunity detected prior to intentional allo-immunization. III. Natural autoreactive H-2 specific antibodies.

Immunogenetics 21, 491- 504

Cichon, H. U. (1979)

Serologisch nachweisbare B-Lymphozyten spezifische Antigene beim Rind.

Inaug.-Diss. Vet. Med., LMU München 1979

Collins, Z. V., Arnold, P. F., Peetoom, F., Smith, G. S., Walford, R. L.
(1973)

A naturally occurring monospecific anti HL-A8 Iso-antibody.

Tissue Antigens 3, 358- 363

- Colombani, J., Colombani, M., Shreffler, D.C., David, C. (1976)
Separation of anti Ia(I-region associated antigens)
from anti-H-2 antibodies in complex sera by absorption on blood platelets.
Tissue Antigens 7, 74 - 85
- Cullen, P.R., Brownlie, J., Bunch, C., Morris, P.J. (1980)
Tissue typing and the sheep
Proc.XVIIth international conference on animal blood
grps biochem.polymorphism, Wageningen, 29.7.-1.8.1980,
55
- Curie-Cohen, M., Usinger, W.R., Stone, W.H. (1978)
Transitivity of response in the mixed lymphocyte
culture test.
Tissue Antigens 12, 170 - 178
- Cwik, S., Cichon, H.U., Schmid, D.O. (1979)
Serologically defined B-lymphocyte antigens in cattle
Proc.XVIth international conference on animal blood
grps biochem.polymorphism, Leningrad, August 1979
- Dam, R.H. van (1981)
The major histocompatibility complex of the goat.
Definition and some aspects of its biological function
Inaug.Diss.RIJKS Universiteit/Utrecht, Nederlande 1981
- Dam, R.H., Borst-van Werooven, C., van der Donk, J.A., Goudswaard, J. (1976)
Histocompatibility in ruminants. The production and
evaluation of alloantibodies for GL-A-typing in goats
J.Immunogenetics 3, 237 - 244
- Dausset, A.J. (1969)
Micro-Lymphocytotoxicity techniques
Manual of tissue typing techniques 43;
Nat.Inst.of Health, Bethesda, Maryland USA

Davies, C.J., Antczak, D.F. (1986)

Serological and cellular typing for bovine class II antigens reveals complexity in the bovine MHC
Proc. XX.th international conference on animal blood
grps. biochem. polymorphism, Helsinki 28.7.-1.8.1986, 14

Dimmock, C.K., Clark, I.A., Hill, M.W.M. (1976)

The experimental production of haemolytic disease
of the newborn in calves.
Res. Vet. Sci. 20, 244- 248

Dorf, M.E., Toth, E.K., Balner, A. (1972)

Cross-reactions of HL-A antibodies. V: Relationship
between the human HLA-II and chimpanzee ChW-II
specificities
Tissue Antigens 2, 461- 472

Dufty, J.H., Outteridge, P.M. (1985)

Studies on the bovine lymphocyte antigens and the
production of lymphocytotoxic antibodies by parous
cattle.
Anim. Blood Grps and Biochem. Genet. 16, 85 - 92

Engelfriet, C.P., Britten, A. (1965)

The cytotoxic test for leucocyte antibodies
Vox Sang 10, 660 - 674

Fallon, H., Frei, E., Davidson, J.D., Trier, J.S., Bruck, D. (1962)

Leucocyte preparations from human blood: evaluation
of their morphologic and metabolic state.
J. Lab. clin. Med. 59, 779 - 791

Faust, J. (1976)

Pränatale Diagnose des fetalen Geschlechtes
Dtsch. Med. Wochenschr. 101, 1576 - 1577

Folger, R.L., Hines, H.C. (1976)

Bovine lymphocyte antigens: serological relationships
with erythrocyte and spermatozoan antigens
Anim. Blood Grps. biochem. Genet. 7, 137 - 145

Ford, C.H.J., Elves, M.W. (1974)

The production of cytotoxic antileucocyte antibodies by parous sheep
J. Immunogenetics 1, 256 - 264

Fox, E.N., Peterson, R.D.A. (1970)

Streptococcal M protein vaccines, rheumatic fever and human histocompatibility antigens
J. Immunol. 105, 1031 - 1032

Galton, M. (1965)

Parent offspring homograft relationship in sheep
Transplant. 3, 39

McGary, D.R., Stone, W.H. (1970)

Immunogenetic studies of cattle lymphocytes
Fed. Proc. 29, 508

Gatti, R.A., Kempner, D.H., Leibold, W. (1979)

The role of the MHC antigens in the mature and the immature host.
Pediatrics 1979, Suppl., 803- 813

Gelabert, A., Balasch, J., Ercilla, G., Vanrell, J.A., Vives, J.,

Gonzalez-Merlo, J., Castillo, R. (1981)

Abortion may sensitize the mother to HLA antigens
Tissue Antigens 17, 353- 356

Gibofsky, A., Terasaki, P. J. (1972)

Trypsinization of lymphocytes for HLA-typing
Transplant 13, 192- 194

Gleichmann, H., Breininger, J. (1975)

Over 95% sensitization against allogeneic leucocytes following single massive blood transfusion
Vox Sang 28, 66- 73

Grzybowski, G., Leveziel, H. (1984)

Persistent anti-BolA class I sera after pregnancy and skin graft immunization
Proc. XIX.th international conference on animal blood grps. biochem. polymorphism, Göttingen 22.-27.1.1984, 108

Grzybowski, G., Zurkowski, M. (1985)

Persönliche Mitteilung

Hanna, M. G. Jr., Tennant, R. W., Yuhas, J. M., Clapp, N. K., Batzig, B. L.
Snodgrass, M. J. (1972)

Autogenous immunity to endogenous RND tumor virus antigens in mice with a low incidence of lymphoma
Cancer Res. 32, 2226- 2234

Harris, R., Ukaejiofo, E. O. (1970)

Tissue typing using one step lymphocyte separation procedure
Brit. J. Haemat. 18, 229- 235

Hines, H. C., Newmann, M. J. (1980/ 1981)

Production of foetally stimulated lymphocytotoxic antibodies by multiparous cows.
XVIIth International conference on animal blood groups and biochemical polymorphisms, Wageningen, 1980
In: Anim. Blood grps Biochem. Genet. 12 (1981), 201 - 206

- Hines, H.C., Ross, M.J., Michalak, M.M., Allaire, F.R. (1984b)
The association of BoLA-antigen with milk production and disease susceptibility differences
Proc. XIX.th international conference on animal blood grps. biochem. polymorphism, Göttingen 22.-27.7.1984, 112
- Hines, H.C., Ross, M.J., Vitans, M. (1984a)
The relationship of BoLA and cattle M-blood group system
Proc. XIX.th international conference on animal blood grps. biochem. polymorphism, Göttingen 22.-27.7.1984, 110
- Hirata, A., Terasaki, P. (1970)
Cross-reactions between streptococcal M-proteins and human transplantation antigens
Science 168, 1095 - 1096
- Hruban, V., Simon, M. (1973)
Lymphocytotoxic antibodies against cattle J-antigen
Anim. Blood Grps biochem. Genet. 4, 183 - 184
- Iha, T.H., Gerbrandt, G., Bodmer, W.F., McGary, D., Stone, W.H. (1973)
Cross-reactions of cattle lymphocytotoxic sera with HLA-and other human antigens
Tissue Antigens 3, 291 - 302
- Ihle, J.N., Yurconic, M. Jr., Hanna, M.G. Jr. (1973)
Autogenous immunity to endogenous RNA tumor virus.
Radioimmune precipitation assay of mouse serum antibody levels.
J. Exp. Med. 138, 194 - 208

Ivanýi, P., Mourik, P. van, Breuning, M., Kruisbeek, A.M., Kröse, C.
J.M. (1982)

Natural H-2 specific antibodies in sera of aged
mice

Immunogenetics 15, 273 - 282

Jensen, G.K. (1962)

Leucocyte antibodies in serums of pregnant women

Vox Sang 7, 454 - 469

Jensen, K.G. (1964)

Leucocyte antibodies in serums of pregnant women;

Serology and clinic II

Vox Sang 9, 315 - 332

Jensen, K.G. (1966)

Leucocyte antibodies and pregnancy

Munksgaard, Copenhagen

Kissmeyer-Nielsen, F., Kjerbye, K.E. (1967)

Lymphocytotoxic micro-technique purification of
lymphocytes by flotation

Histocompatibility Testing, 381 - 383

Munksgaard, Copenhagen

Klouda, P., Dèmant, P., Ivanýi, P. (1968)

A contribution to the definition of monospecific
antileucocyte sera

Proc. XI.th europ. conference animal blood grps. biochem.
polymorphism, Warsaw 2.-6.7.1968, 91 - 96

Larsen, B., Jensen, N.E., Madsen, P., Nielsen, S.M., Klasttrup, O.,
Madsen, P.S. (1984)

Association of the M-blood group system with bovine
mastitis

Proc. XIX.th international conference on animal blood
grps. biochem. polymorphism, Göttingen 22.-27.7.1984, 51

- Lazary, S., De Weck, A.L., Straub, R., Gerber, H. (1975)
Characterization of lymphocyte alloantigens permitting identification of horse families (preliminary results)
Proc. First Internat. Symposium on Equine Hematology
28.-30.5.1975, Michigan State University,
East Lansing, Michigan USA
- Leidl, W., Cwik, S., Schmid, D.O. (1980)
Neonatale Isoimmunleukopenie beim Fohlen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 141 - 144
- Lepage, V., Degos, L., Dausset, J. (1976)
A "natural" anti HLA-A2 antibody reacting with homozygous cells
Tissue Antigens 8, 139 - 142
- Lewin, H.A., Bernoco, D. (1986)
Evidence for BoLA-linked resistance and susceptibility to subclinical progression of bovine leukemia virus infection
Anim. Genet. 17, 197 - 207
- Lewin, H.A., Stewart, J.A., Wu, M.C. (1986)
Association between the bovine lymphocyte antigen (BoLA) system and subclinical progression of bovine leukemia virus infection
Proc. XX.th international conference on animal blood grps. biochem. polymorphism, Helsinki 28.7.-1.8.1986, 18
- Leveziel, H., Hines, H.C. (1984)
Linkage in cattle between the MHC and M-blood group system.
Genetique, Selection, Evolution 16, 405 - 416

- Lindblom, J.B., Friberg, J., Högman, C.F., Gemzell, C. (1972)
HL-A haplotypes and unexplained infertility
Tissue Antigens 2, 352 - 358
- Longenecker, M., Mosmann, T. (1980)
Natural antibodies to chicken MHC antigens are present
in mice, rats, humans, alligators and allogeneic
chickens.
Immunogenetics 11, 293 - 302
- Marsman, A.W.J., Hart, M. van der, Loghem, J.J. van (1970)
Antigenic differences between macrophages and
lymphocytes
Clin. Exp. Immunol. 6, 899 - 903
- Matousek, J., Stanek, R., Riha, J. (1984)
Some immunological aspects in normally pregnant and
embryotransplanted cows.
Proc. XIXth international conference on animal blood
grps biochem. polymorphism, Göttingen, 22.-27.7.1984, 95
- Mercuriali, F., Richiardi, P., Mattiuz, P.L., Sirchia, G. (1971)
AET treated lymphocytes; their use in the lymphocyto-
toxicity reaction
Tissue Antigens 1, 290 - 293
- Meyer, F., Cwik, S., Erhardt, G., Schmid, D.O., Senft, B. (1984)
Zum Nachweis von Lymphozytenantigenen des BoLA-Systems
bei Rindern mit Sekretionsstörungen der Milchdrüse
Züchtungskunde 56, 108 - 114
- Mittal, K.K., Mickey, M.R., Singal, D.P., Terasaki, P.J. (1968)
Serotyping for homotransplantation
Transplant. 6, 913 - 927

Mittal, K.K., Mickey, M.R., Terasaki, P.J. (1969)

Serotyping for homotransplantation. A 45 minute microcytotoxicity test.

Transplantation 8, 801 - 805

Mittal, K.K., Terasaki, P.J., Springer, G.F., Desai, P.R., McIntire, F.C., Hirata, A.A. (1973)

Inhibition of anti-HLA alloantisera by glycoproteins, polysaccharides and lipopolysaccharides from diverse sources.

Transplant. Proc. 5, 499 - 506

Mitscherlitch, E. (1977)

Grundlagen der Immunitätsbildung und der Immunprophylaxe beim neugeborenen Kalb.

Tierärztl. Praxis 5, 45 - 57

Mueller-Eckhardt, C., Heinrich, D., Rothenberg, V., Mersch-Baumert, K., Lange, B. (1972)

Cross-reactive antibodies of the HLA-system
4th Annual Meeting of the German Tissue Typing Laboratories Munich, 30/X/72

Nakajima, H., Mano, Y., Tokunaga, E., Nozue, G. (1982)

Influence of previous pregnancy on maternal response to foetal antigens.

Tissue Antigens 19, 92 - 94

Neu, N., Hála, K., Wick, G. (1984)

"Natural" chicken antibodies to red blood cells are mainly directed against the B-G-antigen and their occurrence is independent of spontaneous autoimmune thyroiditis.

Immunogenetics 19, 269 - 277

Newman, M.J., Antczak, D.F. (1983)

Histocompatibility polymorphisms of domestic animals.

Adv. Vet Sci Comp.Med.27, 2 - 76

Newman, M.J., Hines, H.C. (1979)

Production of foetally stimulated lymphocytotoxic antibodies by primiparous cows

Anim.Blood Grps biochem.Genet.10, 87 - 92

Newman, M.J., Hines, H.C. (1980)

Stimulation of maternal-anti-lymphocyte antibodies by first gestation bovine fetuses.

J.Reprod.Fertil.60, 237 - 241

Nowinski, R.C., Kaehler, S.L. (1974)

Antibody to leukemia virus: Widespread occurrence in inbred mice

Science 185, 869 - 870

Nyman, G. (1974)

Complement-fixing and lymphocytotoxic antibodies in serum of pregnant women at delivery

Vox Sang 27, 322 - 337

Nyman, G. (1975a)

Complement-fixing and lymphocytotoxic antibodies in serum of pregnant women at delivery.

Vox Sang 28, 34 - 41

Nyman, G. (1975b)

Complement-fixing and lymphocytotoxic antibodies in serum of pregnant women at delivery II

Vox Sang 28, 101 - 109

- Nymand, G., Heron, J., Jensen, K., Lundsgaard, A. (1971a)
Occurence of cytotoxic antibodies during pregnancy
Vox Sang 21, 21 - 29
- Nymand, G., Heron, I., Jensen, K.G., Lundsgaard, A. (1971b)
Cytotoxic antibodies in serum of pregnant women at delivery
Acta Pathol. Microbiol. Scand. Section B 79, 595 - 598
- Oldstone, M.B.A., Aoki, T., Dixon, F.J. (1972)
The antibody response of mice to murine leukemia virus in spontaneous infection: Absence of classical immunologic tolerance
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 69, 134 - 138
- Ostrand-Rosenberg, S., Stormont, C. (1974)
Bovine leucocyte antigens
Anim. Blood Grps Biochem. Genet. 5, 231 - 237
- Otto, F. (1970)
Granulozytenisolierung aus dem Blut des Menschen und der Tiere
Blut 21, 290 - 294
- Otto, F., Schmid, D.O. (1970)
Lymphozytenisolierung aus dem Blut der Menschen und der Tiere.
Blut 21, 118 - 122
- Overweg, J., Engelfriet, C.P. (1969)
Cytotoxic leucocyte iso-antibodies formed during the first pregnancy
Vox Sang 16, 97 - 104

Payne, R. (1962)

The development and persistence of leucoagglutinins
in parous women

Blood 19, 411 - 424

Pellegrino, M. A., Ferrone, S., Safford, J. W. jr., Hirata, A. A.,

Terasaki, P. J., Reisfeld, R. A. (1972)

Stimulation of lymphocytic transformation by streptococcal type M-protein: relationship to HL-A antigens.

J. Immunol. 109, 97 - 102

Rapaport, F. T. (1970)

Role of streptococcal and other heterologous antigens in transplantation

Transplant. Proc. 2, 447 - 453

Rapaport, F. T. (1974)

Cross-reactive antigens, cancer and transplantation

Transplant. Proc. 6, 39 - 44

Rapaport, F. T., Chase, R. M. jr., Solowey, A. C. (1966)

Transplantation antigen activity of bacterial cells in different animal species and intracellular localization.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 129, 102 - 117

Ritzel, G., McCarthy, S. A., Fotedar, A., Singh, B. (1984)

Gene conversion may be responsible for the generation of alloreactive repertoire.

Immunology Today 5, 343 - 345

Rood, J. J. van, Eernisse, J. G., Leeuwen, A. van (1958)

Leucocyte antibodies in sera from pregnant women

Nature 181, 1735 - 1736

- Ruder, H., Opelz, G., Lenhard, V., Schäfer, A., Daniel, V. (1984)
A rapid screening technique for lymphocytotoxic
antibodies using tray-frozen lymphocytes
Cryobiology 21, 480 - 485
- Schmid, D.O., Buschmann, H.G. (1985)
Blutgruppen bei Tieren
F. Enke Verlag, Stuttgart
- Schmid, D.O., Cwik, S. (1972)
On leucocyte serology in pig and cattle
Anim. Blood Grps Biochem. Genet. 3, Suppl. 1, 11 - 12
- Schmid, D.O., Cwik, S. (1973)
Über den Nachweis von Phaseolus-vulgaris-Rezeptoren
bei Lymphozyten und Granulozyten von Rind und
Schwein.
Zbl. Vet. Med. B, 20, 169 - 172
- Schmid, D.O., Cwik, S., Kräußlich, H., Meyer, J., Graf zu Dohna, R.
(1978b)
Über lymphozytotoxische Antikörper beim weiblichen
Zuchtschwein.
Zbl. Vet. Med. B, 25, S. 517 - 523
- Schmid, D.O., Otto, F. (1970)
Contribution to serology of lymphocytes in cattle
and pigs.
XII.th europ. conference on animal blood grps. biochem.
polymorphism, Budapest 6.-11.7.1970, 117 - 119
- Schmid, D.O., Otto, F., Cwik, S. (1972)
Über Lymphozyten- und Granulozytenantigene beim
Schwein.
Beitr. Gerichtl. Med. 29, 170 - 174

- Schmid, D.O., Rensmeyer, W., Cwik, S. (1978a)
Red cell associated antigens of the B-blood group
system on bovine and sheep lymphocyte
Anim.Blood Grps biochem.Genet.9, 47 - 49
- Scholle, H., Schlag, W., Rühl, H. (1972)
Vergleichende Untersuchung verschiedener Methoden
zur Isolierung peripherer menschlicher Lymphozyten
Blut 24, 54 - 57
- Schröder J., de la Chapelle, A. (1972)
Fetal lymphocytes in the maternal blood
Blood 39, 153 - 162
- Shishkov, V.P., Slepchenko, A.R. (1986)
BoLA-system and susceptibility to leukemia and bo-
vine leukemia virus
Proc. XX.th international conference on animal blood
grps.biochem.polymorphism, Helsinki 28.7.-1.8.1986, 21
- Siebers, J.W., Knauf, I., Hillemanns, H.G. (1975)
Antenatal sex determination in blood from pregnant
women
Humangenetik 28, 273 - 280
- Simon, M., Hruban, V. (1971)
Lymphocyte typing in pigs: evidence for antigen L 1
Anim.Blood Grps Biochem.Genet.2, 95 - 100
- Simonney, N., Layrisse, Z., Balbas, O., Garcia, E., Stoikow, Z. (1984)
Cytotoxic antibodies in sera of venezuelan multipa-
rous women of amerindian and mixed ethnic origin
Tissue Antigens 23, 117 - 126

- Sinnott, P.J., Kippax, R.L., Sheldon, S.Dyer, P.A. (1985)
A simple and rapid method for the detection of
lymphocytotoxic antibodies using cell panels frozen
on Terasaki plates
Tissue Antigens 26, 318 - 322
- Sirchia, G., Scalamogna, M., Picci, C., Mercuriali, P. (1973)
Lymphocyte isolation and treatment with AET for
routine use in the lymphocytotoxicity test.
Tissue Antigens 3, 136 - 139
- Slepchenko, A.R., Cwik, S., Shishkov, V.P., Itkin, B.Z., Vollmer, T.,
Schmid, D.O. (1978)
Serologically defined lymphocyte antigens in cattle
Proc. XVI.th international conference on animal blood
grps. biochem. polymorphism, Leningrad 14.-18.8.1978,
- Spooner, R.L., Ferrone, S. (1984)
Cross-reaction of monoclonal antibodies to human
MHC class I and class II products with bovine lym-
phocyte subpopulations
Tissue Antigens 24, 270 - 277
- Spooner, R.L., Leveziel, H., Grosclaude, F., Oliver, R.A., Vaiman,
M.C. (1978)
Evidence for a possible major histocompatibility
complex (BoLA) in cattle
J. Immunogenetics 5, 335 - 346
- Spooner, R.L., Millar, P., Oliver, R.A. (1979a)
The production and analysis of antilymphocyte sera
following pregnancy and skin grafting of cattle.
Anim. Blood Grps. Biochem. Genet. 10, 99 - 105
- Spooner, R.L., Morgan, A.L.G. (1981)
Analysis of BoLA W6. Evidence for multiple subgroups
Tissue Antigens 18, 178 - 188

Spooner, R.L., Morgan, A.L.G., Oliver, R.A. (1980)

Absorption analysis of BoLA sera

Tissue Antigens 15, 289 - 296

Spooner, R.L., Oliver, R.A., Sales, D.J., McCoubrey, C.M., Miller, P., Morgan, A.G., Amorena, B., Bailey, E., Bernoco, D., Brandon, M., Bull, R.W., Caldwell, J., Cwik, S., van Dam, R. H., Dodd, J., Gahne, B., Grosclaude, F., Hall, J.G., Hines, H., Leveziel, H., Newman, M.J., Stear, M.J., Stone, W.H., Vaiman, M. (1979b)

Analysis of alloantisera against bovine lymphocytes.
Joint report of the first International Bovine Lymphocyte Antigen(BoLA) Workshop.

Anim.Blood Grps biochem.Genet.10, 63 - 86

Stormont, C. (1950)

Additional gene controlled antigenic factors in
the bovine erythrocyte

Genetics 35, 76 - 94

Stone, W.H., Cragle, B.G., Swanson, E.W., Brown, D.G. (1965)

Skin grafts: delayed rejection between pairs of
cattle twins showing erythrocyte chimerism

Science 148, 1335 - 1336

Tait, B.D., d'Apice, J.F., Morris, P.J. (1974)

Maternal cell mediated immunity to foetal transplantation antigens

Tissue Antigens 4, 586 - 594

- Teillaud, J.L., Crevat, D., Chardon, P., Kalil, J., Goujet-Zalc, C.,
Mahouy, G., Vaiman, M., Fellous, M., Pious, D. (1982)
Monoclonal antibodies as a tool for phylogenetic
studies of major histocompatibility antigens and
 B_2 -microglobulin
Immunogenetics 15, 377 - 384
- Terasaki, P.J., McClelland (1964)
Microdroplet assay of human serum cytotoxins
Nature 204, 998 - 1000
- Thorsby, E., Bratlie, A. (1970)
A rapid method for preparation of pure lymphocyte
suspensions
Histocompatibility Testing, 655 - 656
Munksgaard Copenhagen
- Tongio, M.M., Berrebi, A., Mayer, S. (1972)
A study of lymphocytotoxic antibodies in multipa-
rous women having had at least four pregnancies
Tissue Antigens 2, 378 - 388
- Tongio, M.M., Falkenrodt, A., Mitsuishi, Y., Urlacher, A., Bergerat,
J.P., North, M.L., Mayer, S. (1985)
Natural HLA antibodies
Tissue Antigens 26, 271 - 285
- Tongio, M.M., Mayer, S., Lebec, A. (1975)
Transfer of HL-A antibodies from the mother to the
child
Transplantation 20, 163 - 166
- Uhlenbruck, G. (1971)
Immunbiologie
W.Goldmann Verlag, München

- Unger, P., Kissmeyer-Nielsen, F., Thorsby, E. (1971)
A disposable tray for microdroplet tissue typing.
Vox Sang 20, 286 - 287
- Usinger, W.R., Curie-Cohen, M., Stone, W.H. (1977)
Lymphocyte defined loci in cattle
Science 196, 1017 - 1018
- Vaiman, M. (1986)
MHC in farm mammals
Proc. XXth international conference animal blood
grps. biochem. polymorphism, Helsinki, 27.7-1.8.1986, 8 - 10
- Vollmer, T. (1979)
Über Lymphozytenantigene beim Rind.
Inaug. Diss. Vet. Med., LMU München 1979
- Walford, R.L. (1969)
Cytotoxicity test
Manual of tissue typing techniques, 28 - 31
Natl. Inst. of Health, Bethesda, Maryland USA
- Walford, R.L., Gallagher, R., Troup, G.M. (1965)
Human lymphocyte typing with isologous antisera:
technical considerations and preliminary study of
the cytotoxic reactions system.
Transplant. 3, 387 - 401
- Walford, R.L., Schaubrom, E., Troup, G.M., Zeller, E., Ackermann, B.
(1967)
Lymphocyte grouping with defined antisera.
Histocompatibility Testing, 221 - 230
Munksgaard, Copenhagen

Walford, R.L., Troup, G.M. (1967)

Monospecific lymphocytotoxic antisera, an absorption study

Vox Sang 12, 173 - 185

Weck, A.L.de, Lazary, S., Bullen, S., Gerber, H., Meister, U. (1978)

Determination of leucocyte histocompatibility antigens in horses by serological techniques.

Equine Infectious Diseases IV.

Proc. 4th international conference equine infectious diseases. Ed. J.T. Bryans - H. Gerber,

Veterinary Publications, 223 - 227, Princeton USA

Wirsing, C.H., Finger, H., Ströder, J. (1979)

Einfluß maternalen Antikörper auf primäre und sekundäre Immunantwort des juvenilen Organismus.

Klin. Wochenschrift 57, 75 - 79

Yunis, E.J., Ward, F.E., Amos, D.B. (1970)

Observations on the CNAP phenomenon.

Histocompatibility Testing , 351 - 356

Munksgaard, Copenhagen

Abschließend bedanke ich mich herzlich bei allen, die mich bei der Durchführung meiner Dissertation unterstützt haben:

Herrn Prof.Dr.Dr.h.c.mult.A.Mayr für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes am Institut für Blutgruppen- und Resistenzforschung in Grub.

Herrn Prof.Dr.D.O.Schmid ,der die Arbeit angeregt und durch seine stets gewährte Unterstützung wesentlich zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen hat.

Herrn Dr.S.Cwik, der mich während der gesamten Arbeit im Labor in unermüdlicher Geduld und steter Freundlichkeit unterstützte. Seinem Einsatz verdanke ich die Fertigstellung der Dissertation in relativ kurzer Zeit.

Herrn Prof.Dr.J.Meyer für die Überlassung des Tierbestandes des Lehr- und Versuchsgutes in Oberschleißheim zur Blutentnahme.

Der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht und der Staatliche Versuchsgüterverwaltung in Grub für die Möglichkeit der Blutentnahme in ihrem Bestand.

Frau H.Pfeffer und Herrn O.Ruschinzik, sowie allen anderen Mitarbeitern des Blutgruppeninstitutes für die ausgezeichnete technische Hilfe und ihre freundliche Unterstützung.

Herrn Dr.Fleischmann,Leiter der Besamungsstation Höchstädt
und Herrn Dr.Mahler, Leiter der Besamungsstation Memmingen
für die Überlassung von Blutproben.

Herrn Dr.W.Schuh und meinem Vater für die Möglichkeit, die
Serumproben in ihrem Praxisgebiet zu sammeln.

Meinen Eltern, die mir das Studium der Tiermedizin und die
Anfertigung dieser Dissertation ermöglicht haben.

Lebenslauf

24.06.1959	Geboren in Nördlingen
Eltern:	Dr.Erhard Zimmermann,Tierarzt Brigitte Zimmermann, geb. Haag
1965	Eintritt in die Volksschule Möttingen
1969	Übertritt in das Theodor Heuss Gymnasium Nördlingen
1978	Abitur am Theodor Heuss Gymnasium Nördlingen
1979	Sprachstudium an der Università per stranieri in Perugia/Italien
1979-1980	Studium der Veterinärmedizin an der Facoltà di Veterinaria der Universität Perugia/Italien
1981-1982	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität in Berlin
1982-1985	Studium der Tiermedizin an der Ludwig - Maximilians-Universität in München
1985	Approbation als Tierarzt
Mai 1986	Eheschließung
Oktober 1983	Beginn der vorliegenden Dissertation

